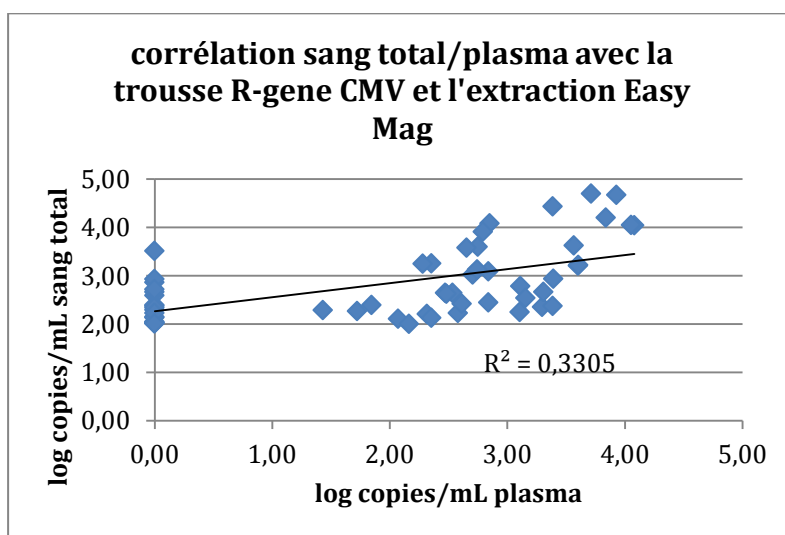


Evaluation de la trousse ampliprep/Cobas Taqman CMV (Roche) par rapport à la trousse CMV-R gene (Argene)/Easy Mag (BioMérieux) sur plasma (CNR Limoges)

La trousse CMV-R gene (Argene) est la technique utilisée en routine sur la matrice sang total par le laboratoire CNR. Pour cette étude, les échantillons testés ont été choisis en fonction de leur résultat de routine à partir d'une collection de plasmas et de sang total collectés prospectivement. Les extraits d'acides nucléiques totaux sont obtenus avec l'automate Easy Mag (BioMérieux) protocole specific B pour plasma. Volume extrait : 200 μ L, élution dans 50uL. Le seuil de détection de la trousse CMV R gene est de 75 copies/mL. Un contrôle interne IC est incorporé à l'extraction. La trousse Ampliprep/Cobas Roche est complètement automatisée, et mesure la charge virale en UI par mL Volume extrait : 500uL élution dans 75uL. Un contrôle interne incorporé à l'extraction valide l'ensemble du processus.

Pour cette évaluation 90 échantillons dont 56 positifs en sang total ont été testés en parallèle à partir d'aliquotes conservés à -80°C testés par la technique R-gene et par la méthode Ampliprep/cobas taqman CMV, selon les recommandations du fabricant. La corrélation plasma /sang total a été vérifiée auparavant.

Corrélation entre plasma et sang total avec la trousse CMV R-gene après extraction EasyMag :



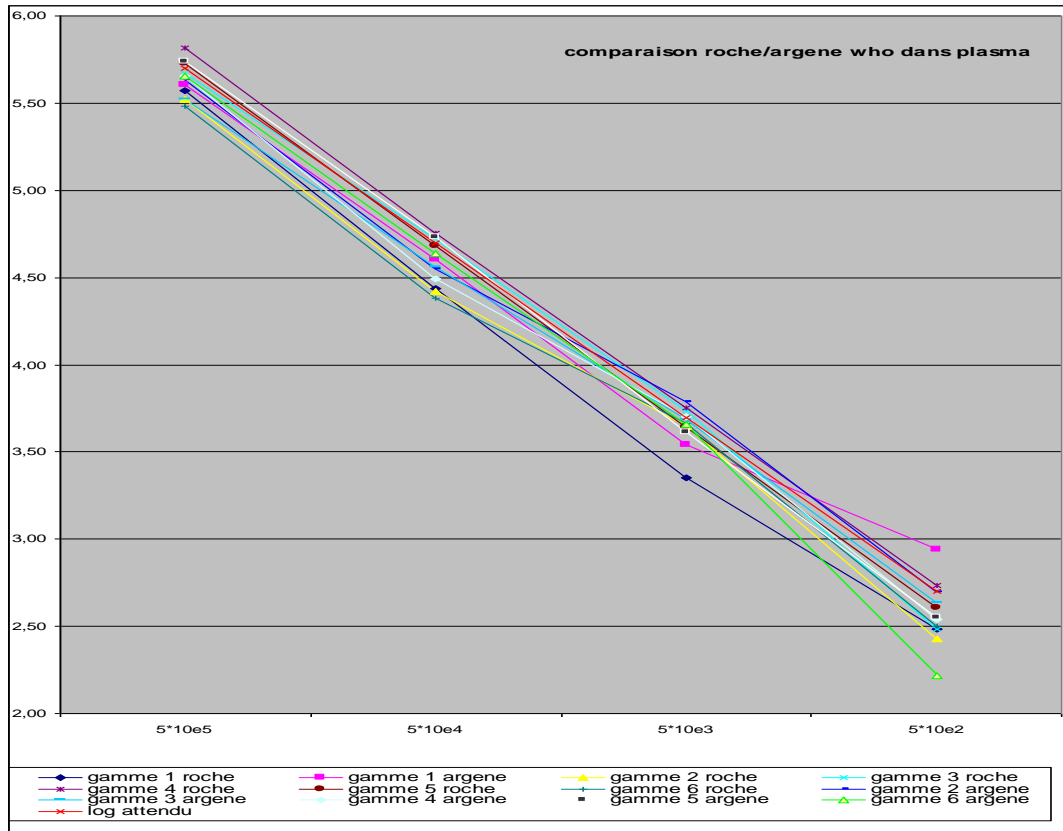
Coefficient de Spearman : 0,8771, $p < 0,00001$.

Auparavant, un panel de 6 gammes de 5.10^5 à 5.10^2 cop/ml de WHO dilué en matrice plasma a été testé.

Standard OMS dilué en plasma :

Le facteur de conversion indiqué par le fabricant Roche pour le kit Ampliprep/cobas taqman est de 1.094 (137ui/ml = 150cop/ml). Dans l'étude ce facteur de conversion a été utilisé pour tous les résultats. Pour Argène, et pour Roche nous avons cependant calculé le facteur de conversion par la méthode du CNR :

Le coefficient de corrélation avec le WHO est de 1.27 pour la technique Ampliprep/cobas taqman plasma. Le coefficient de corrélation avec le WHO est de 1.19 pour la technique rgene cmv plasma.

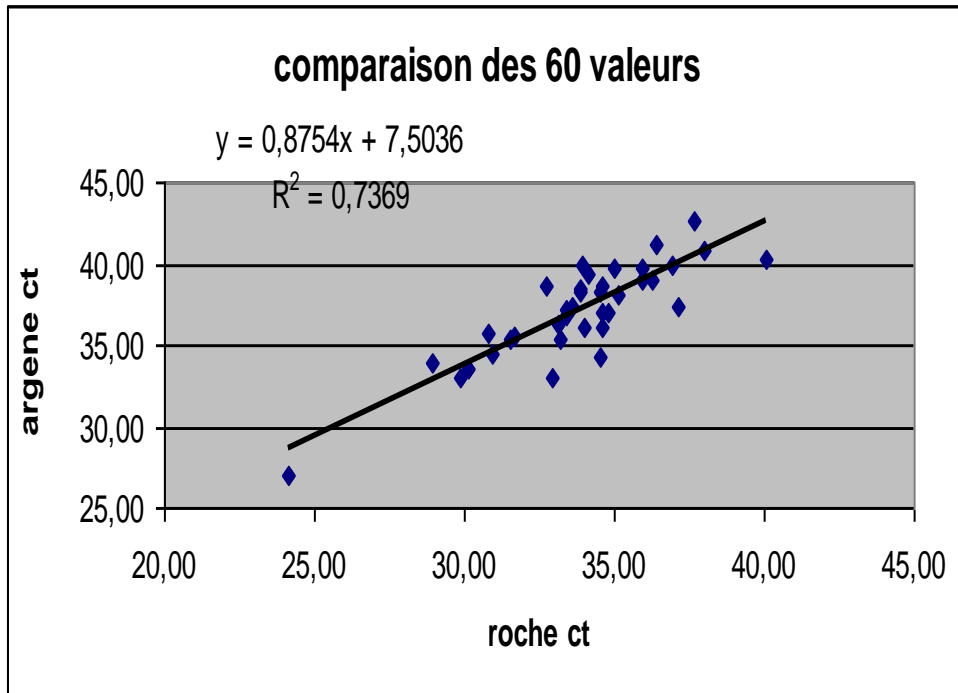


ci dessus : gammes de dilution du standard OMS par les deux méthodes

Echantillons de patients (plasma) :

1/30 échantillons négatifs en R-gene sang total en routine est trouvé détectable en Rgene plasma (52 cop/ml soit inférieur au seuil) et négatif en Roche. Tous les autres sont indétectables, ce qui valide la spécificité du test Ampliprep/Cobas Roche.

Parmi les 60 échantillons positifs en Rgene sur sang total en routine nous avons comparé les résultats en copies/mL et en UI/mL en utilisant les facteurs de conversion du fabricant pour Roche et du CNR pour Rgene. Cependant, du fait du nombre de valeurs faiblement positives dans le plasma, en particulier avec la technique Roche, et donc non quantifiables du fait de son seuil à 137 UI/mL (ou 149 copies/mL), nous avons utilisé les CT pour la comparaison graphique. Ce faisant, la corrélation entre les deux méthodes sur les 60 prélèvements exploitables est correcte : $R^2 = 0,74$. Le coefficient de corrélation de Spearman calculé en considérant nulles les valeurs inférieures au seuil de quantification et en utilisant les résultats en UI/ml est 0,91 soit $p < 0,0001$. Ceci confirme la bonne corrélation ces valeurs quantitatives obtenues par les deux techniques.



Conclusion : La trousse R-gene présente une bonne corrélation entre plasma et sang total après extraction Easy Mag. Nous avons donc sélectionné des patients transplantés présentant une infection à CMV détectée sur sang total pour cette comparaison. Sur la matrice plasma, la corrélation entre la trousse Roche et la trousse R-gene est satisfaisante, que l'on se base sur les CT ou sur les conversions en UI/mL.