

La métrologie chimique dans la lutte contre la pandémie Covid-19

Présentée par: Hanen Klich
LNMc-INRAP



Journée mondiale
de la métrologie

الوكالة الوطنية للمترولوجيا
Saudi Standards
GULF MET
الهيئة العامة للمواصفات والمقاييس

Mesurer
pour la santé

Bureau
International des
Poids et
Mesures

OIML

20 mai 2021
www.worldmetrologyday.org

World Metrology Day

2021

Measurement
for Health

La métrologie chimique dans la lutte contre la pandémie Covid-19

Présentée par: Hanen Klich
LNMc-INRAP



Journée mondiale
de la métrologie



Mesurer
pour la santé



Bureau
International des
Poids et
Mesures



20 mai 2021
www.worldmetrologyday.org

PLAN

- **INTRODUCTION;**
- **COVID-19 : TERMINOLOGIE;**
- **COOPÉRATION INTERNATIONALE MÉTROLOGIQUE POUR COMBATTRE LA PANDÉMIE COVID-19;**
- **INRAP LEADER DE LA STRATÉ́GIE NATIONALE DE MÉTROLOGIE CHIMIQUE : SNMIC.**



Introduction



Mesurer pour la
santé

Traçabilité
métrologique
pour la fiabilité
des mesures

Une préparation
aux urgences
sanitaires pour
la lutte contre la
COVID 19

Développement
Durable des
systèmes &
sécurité
sanitaire



COVID-19
RESPONSE



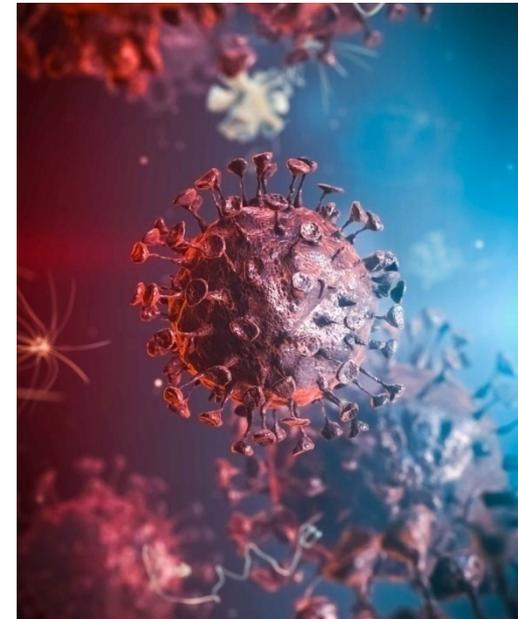
■ En 2020 la COVID-19 a menacé la santé et le bien-être de tous les habitants de la planète, la 74^{ème} Assemblée mondiale de la Santé a insisté sur l'urgence qu'il y a à mettre fin à la pandémie actuelle et à prévenir les pandémies suivantes en construisant un monde en meilleure santé, *plus sûr et plus juste*.

■ Au cours de l'année écoulée, le nombre de cas de COVID-19 a été multiplié par 40 pour atteindre 162 millions à l'échelle mondiale, tandis que plus de 3,3 millions de personnes sont mortes de la maladie, une multiplication par 11.

■ Les *INMs* et de nombreuses organisations actives dans le *JCTLM* (The **Joint Committee for Traceability in Laboratory Medicine**) ont depuis été impliqués dans la réponse à la crise et dans le *développement d'outils de diagnostic fiables* pour y faire face.

■ Tous les pays du monde sont encore en cours de lutter contre la crise et de développer *des stratégies et des plan d'actions pour faciliter les mesures de contrôle et de diagnostique*.

■ Les analyses et tests de diagnostic *fiables* continueront de soutenir ces efforts nationaux dans le monde entier.





Covid-19: Terminologie



Appellation de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) et du virus qui la cause

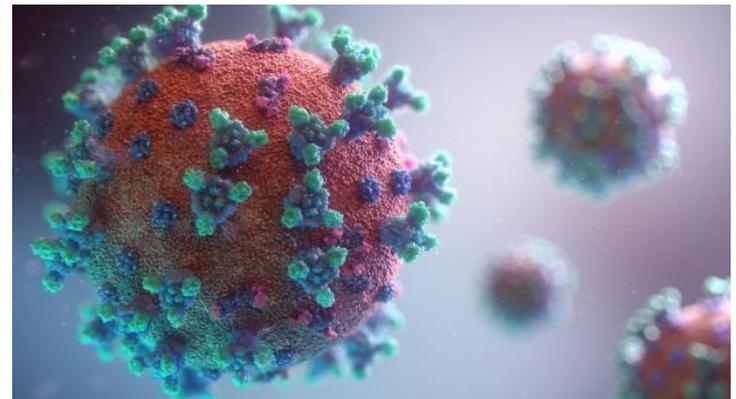
Des noms officiels ont été annoncés pour le virus responsable de la COVID-19 (auparavant désigné par « nouveau coronavirus 2019 ») et pour la maladie qu'il cause. Ces noms officiels sont les suivants :

▪Maladie

maladie à coronavirus 2019
(COVID-19)

▪Virus

coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2)





Coopération internationale météorologique pour combattre la pandémie COVID-19



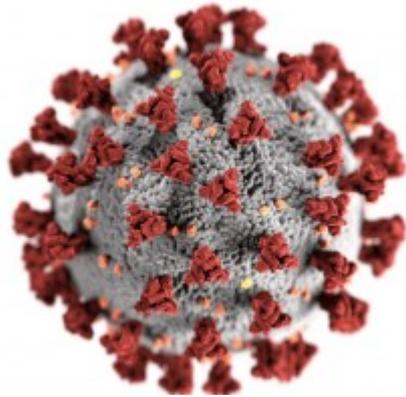
- Le BIPM a consacré un portail sur son site web détaillant les stratégies et les efforts des différents INMs pour la lutte contre Covid-19.

<https://www.bipm.org/fr/metrology-in-the-fight-against-covid-19/nmi-contributions?>

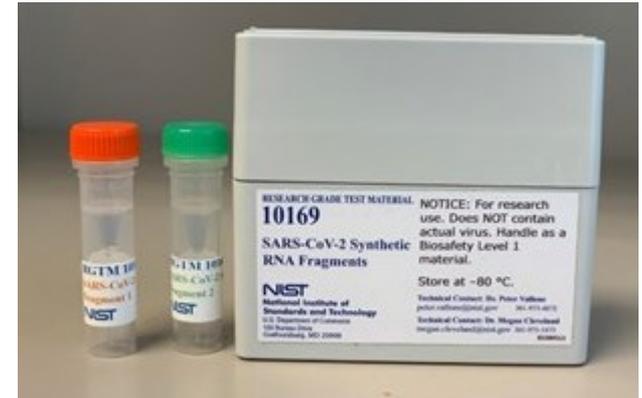
- Le 7 juillet 2020, le CCQM a lancé un webinaire sur la fiabilité des mesures en réponse à la pandémie de Covid-19 qui a été diffusé en direct par le BIPM.

- Le CCQM a approuvé les propositions de certains de ses groupes de travail afin de lancer **13 comparaisons clés et quatre études pilotes** (parmi lesquelles [CCQM-P199.b](#) sur la quantification du nombre de copies du SARS-CoV-2 et [CCQM-P216](#) sur la quantification des anticorps du SARS-CoV-2).

- Le JCTLM a émis un numéro (newsletter) spécial décrivant les activités des membres et stakeholders pour la lutte contre Covid-19: **Reference Materials, Measurement Methods and Services for In Vitro Diagnostics**

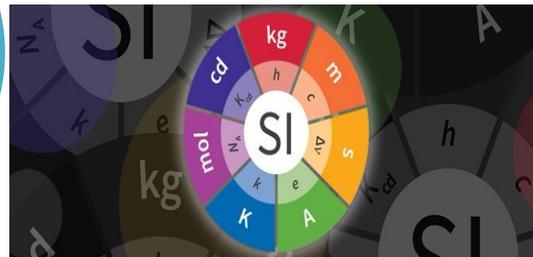


MRCs:
étalons,
Matrice et
pour le
diagnostique



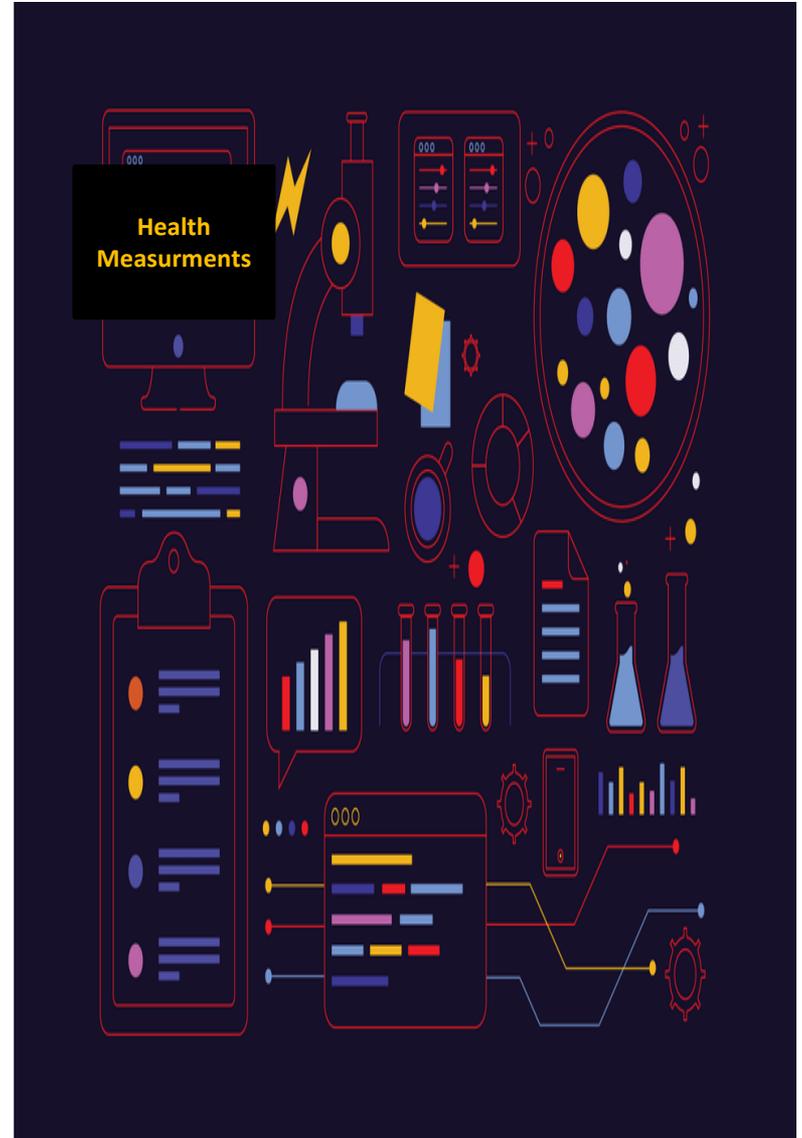
Mic
la fiabilité des
mesures en réponse à
la pandémie de
Covid-19

Comparaison
inter-
laboratoire



Méthode et
test de
mesure

Les MRC outils importants pour:
identification des analytes, validation des Méthodes en biologie médicale



Le développement des MRCs pour l'analyse des SARS-CoV-2: Cas de NIM Chine

Depuis le déclenchement de l'épidémie Covid-19 à Wuhan-Chine en Décembre 2019, NIM a réagi rapidement en accordant une priorité à la recherche et au développement des MRCs relatifs aux tests du SRAS-CoV-2. Désormais, les deux catégories des MRCs les plus importantes sont développées selon les méthodes d'analyses suivantes:

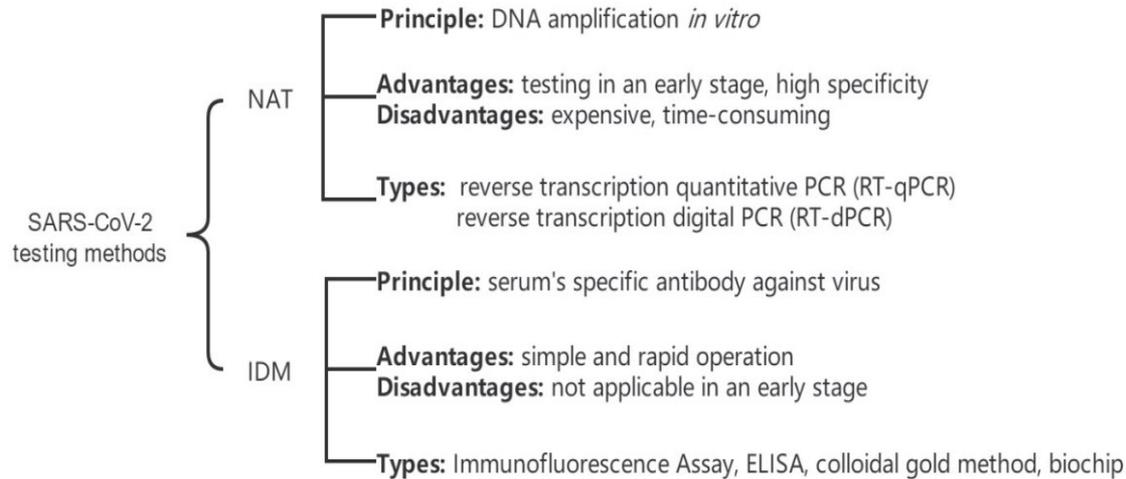


Fig 1. Comparaison entre les deux méthodes d'analyses SARS-COV-2

1. Les Matériaux de références ARN SARS-CoV-2

- Le matériau de référence ARN du SRAS-CoV-2 est composé de 3 cibles d'ARN transcrites in vitro: la nucléocapside (N) (pleine longueur), l'enveloppe (E) (pleine longueur) et le fragment de gène à cadre ouvert de lecture 1ab (ORF1ab) (génomme coordonnées: 13201-15600), couvrant tous les fragments cibles recommandés par l'OMS et le Centre chinois de contrôle et de prévention des maladies (CDC de Chine).
- La valeur de référence est la concentration en nombre de copies des trois gènes cibles. Ces matériaux de référence peuvent être directement ajoutés dans la solution de PCR pour participer à la transcription inverse, assurer le contrôle de qualité des processus de transcription inverse, d'amplification et de détection par PCR, et ainsi garantir la fiabilité du processus de test.
- Une méthode très précise et sensible de PCR (digitale) a été établie et appliquée pour la caractérisation des matériaux de référence ARN SARS-CoV-2.
- En outre, un stabilisateur d'ARN a été sélectionné et optimisé pour garantir que les matériaux de référence ARN puissent être stables pendant plus de 6 mois.



Tableau 1. Les MRCs ARN SARS-CoV-2 : valeur de référence et incertitudes

Name	Numbering	Reference value and uncertainty	Concentration		
			E gene (copy/ μ L)	ORF1ab gene (copy/ μ L)	N gene (copy/ μ L)
SARS-CoV-2 RNA reference material (high concentration)	GBW(E)091089	Reference value	5.03×10^5	9.39×10^5	7.00×10^5
		Expanded uncertainty (k =2)	0.47×10^5	0.92×10^5	0.71×10^5
SARS-CoV-2 RNA reference material (low concentration)	GBW(E)091090	Reference value	5.78×10^2	1.07×10^3	7.75×10^2
		Expanded uncertainty (k =2)	0.64×10^2	0.14×10^3	0.81×10^2

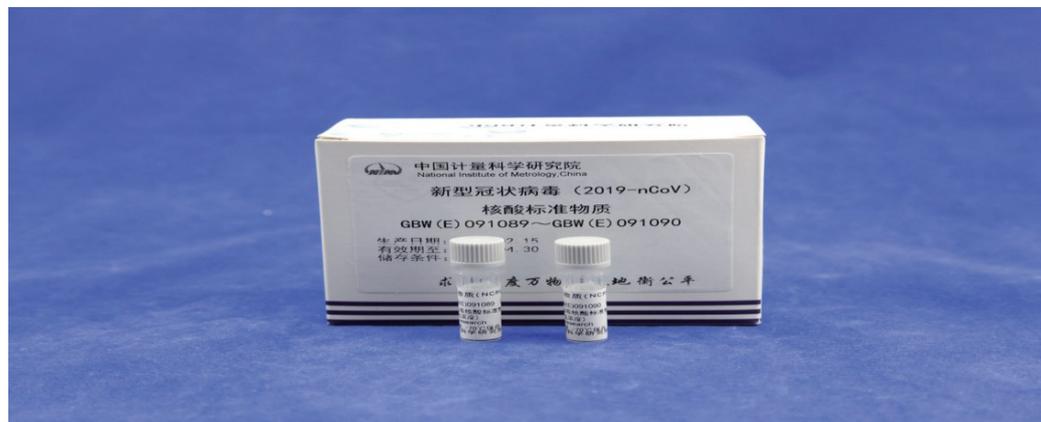


Fig 2. RM ARN SARS-CoV-2



2. Les Matériaux de Référence immunologique SARS-CoV-2

- Tout d'abord, le criblage d'anticorps monoclonaux contre le fragment S1 de la protéine de pointe du SRAS-CoV-2 et l'acide aminé N-terminal 1-213 de la protéine de nucléocapside du SRAS-CoV-2 ont été réalisés respectivement.
- Ensuite, les anticorps ont été humanisés, exprimés par des lignées cellulaires 293T et purifiés en utilisant une colonne de protéine A. Après l'analyse de pureté, la détermination du poids moléculaire, la caractérisation du spectre peptidique et l'évaluation de l'activité protéique, la spectrométrie de masse à dilution isotopique (IDMS) basée sur l'analyse des acides aminés a été utilisée pour déterminer la fraction massique de l'anticorps monoclonal IgG dans une solution tampon et le résultat a été utilisé comme valeur de référence de l'anticorps monoclonal IgG.



2. Les Matériaux de Référence immunologique SARS-CoV-2

■ Au cours des expériences, **4 types de matériaux de référence purs primaires nationaux d'acides aminés ont été utilisés comme étalons de référence pour la traçabilité**, et les instruments de pesage utilisés ont été étalonnés, afin de garantir que la fraction massique des matériaux de référence IgG sont traçables au Système des Unités de base SI Kilogramme (kg) et Mole (mol). En parallèle, les deux matériaux de référence d'anticorps monoclonaux IgG ont également été déterminés en utilisant un spectromètre de masse en tandem Quadrupole-Linear Ion Trap (Q-LIT) fabriqué en laboratoire, et les résultats étaient cohérents avec ceux obtenus en utilisant le spectromètre de masse commercial.

■ Ces matériaux de référence développés peuvent simuler l'anticorps IgG dans le sérum des patients et réagir avec l'antigène enrobé et l'anticorps secondaire dans les kits de test, afin d'évaluer la qualité des kits et de vérifier les méthodes de détection.



Table 2. Les MRCs immunologique SARS-CoV-2: valeur de référence et incertitudes

Name	Numbering	Concentration	
		Reference value ($\mu\text{g/g}$)	Expanded uncertainty ($k=2$) ($\mu\text{g/g}$)
Human IgG monoclonal antibody to spike glycoprotein solution reference material of SARS-CoV-2	GBW(E)0911109	70.8	5.7
Human IgG monoclonal antibody to nucleocapsid protein solution reference material of SARS-CoV-2	GBW(E)0911110	85.3	8.5

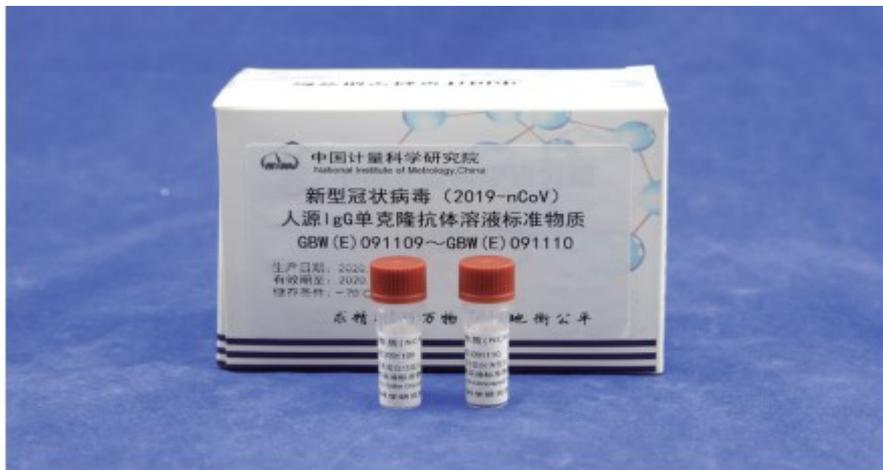


Fig 3. MR immunologique SARS-CoV-2



3. Autres types de MRCs

▪ **MRCs Anti-corps Monoclonaux IgG(GBW(E)091109-GBW(E)091110):**

Les deux MRCs anti-corps monoclonaux IgG contiennent des anticorps monoclonaux humanisés contre le SRAS-CoV-2, la protéine Spike et la protéine nucléocapside, respectivement. Les valeurs de référence des deux MRCs sont déterminées par Spectrométrie de Masse à Dilution Isotopique (IDMS) sur la base d'une analyse des acides aminés.

▪ **MRC IgM:**

Le MRC anti-corps monoclonal IgM en cours de production, contient l'anti-corps monoclonal IgM humanisé contre la protéine de nucléocapside. La valeur de référence de l'IgM CRM est déterminée par Spectrométrie de Masse à Dilution Isotopique (IDMS) basée sur l'analyse des acides aminés.



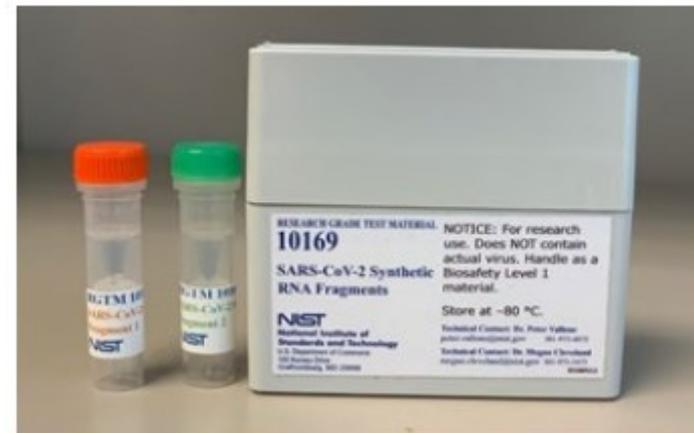
Le développement des MRCs pour l'analyse du SARS-CoV-2: Autres INMs

INM	MRCs	
NIST, USA	<ul style="list-style-type: none"> ▪ RGTM 10169: fragments synthétiques de l'ARN du virus SARS-CoV-2 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ces fragments d'ARN sont destinés à aider le développement et la validation des méthodes de dosage RT-qPCR pour la détection du SARS-CoV-2.
TÜBİTAK UME- National Metrology Institute of Turkey	<ul style="list-style-type: none"> ▪ MR SARS-CoV-2 Virus RNA: pour les mesures RT-qPCR 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ MR pour contrôler toutes les étapes de la détection du virus: <ul style="list-style-type: none"> • validation de la méthode, • utilisation comme matériel de contrôle qualité interne, • utilisation dans les programmes d'essais d'aptitude (contrôle qualité externe)
KRISS, Republic of Korea	<ul style="list-style-type: none"> ▪ KRISS 111-10-506: MR SARS-CoV-2 RNA ▪ MR pseudo-particules virales SARS-CoV-2 ▪ MR protéines recombinantes 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ RM contenant cinq fragments d'ARN transcrits in vitro couvrant environ 90% du génome ARN du SARS-CoV-2. <ul style="list-style-type: none"> ▪ ARN avec enveloppe. ▪ Antigènes et anticorps du SARS-CoV-2.

Le développement des MRCs pour l'analyse du SARS-CoV-2: Autres INMs



***KRIS 111-10-506
SARS-CoV-2 ARN***



***RGTM 10169
SARS-CoV-2 virus ARN***

L'application des MRCs pour l'analyse du SARS-CoV-2

- Pour les fabricants, les MRCs SARS-CoV-2 sont très utiles pour:
 1. *le développement de leur kits de test ou de leurs bandelettes de test,*
 2. *le développement de matériaux de contrôle qualité des entreprises de santé,*
 3. *l'auto-évaluation des performances des produits.*

- Les retours ont confirmé que l'application de tels MRCs aident les entreprises à :
 1. *définir les spécifications des produits,*
 2. *réduire les cycles de R&D,*
 3. *résoudre les problèmes de traçabilité.*

- La majorité des entreprises ont utilisé les MRCs pour *valider des méthodes de test développées en interne en déterminant des limites de quantification et de détection.*

- Ils ont également utilisé les MRCs pour *assurer la traçabilité métrologique* de leurs propres échantillons de référence afin *de répondre aux exigences d'enregistrement des dispositifs médicaux.*

L'application des MRCs pour l'analyse des SARS-CoV-2

- L'utilisation des MRCs identiques garantit *la comparabilité des résultats des tests de différentes entreprises*. Certains hôpitaux ont utilisé ces MRCs pour *le contrôle de la qualité des essais cliniques et ont signalé que les MRCs pourraient effectivement indiquer la stabilité des réactifs et des instruments*.
- Les laboratoires et entreprises du secteur de la santé ont signalé que l'utilisation des MRCs a permis *d'évaluer de manière efficace leurs compétences* et leurs efforts pour combattre la pandémie.

Comparaison clés et essais d'aptitude relative à la lutte contre le SARS-CoV-2

- Le Groupe de travail du CCQM sur l'analyse des acides nucléiques *CCQM-NAWG a lancé une étude inter-laboratoires accélérée pour la mesure du génôme de l'ARN du SRAS-CoV-2*, coordonnée par le Laboratoire national de mesure du *LGC (Royaume-Uni), NIM (Chine), NIBSC (Royaume-Uni) et NIST (États Unis)*.
- L'étude (CCQM-P199.b) se concentrera sur *la mesure des gènes clés ciblés par les tests de diagnostic du SRAS-CoV-2*, et *utilisera des matériaux développés en Chine et au Royaume-Uni*.
- Plus d'une douzaine d'instituts nationaux de métrologie du monde entier participent à l'étude avec des laboratoires invités experts en détection et quantification de virus, notamment le Center for Biologics Evaluation and Research (USA) et le Research Institute of Influenza (Russie).



INRAP leader de la Stratégie Nationale de Métrologie chimique SNMic



Problème

Produits tunisiens et/ou processus analytique non conformes aux exigences internationales

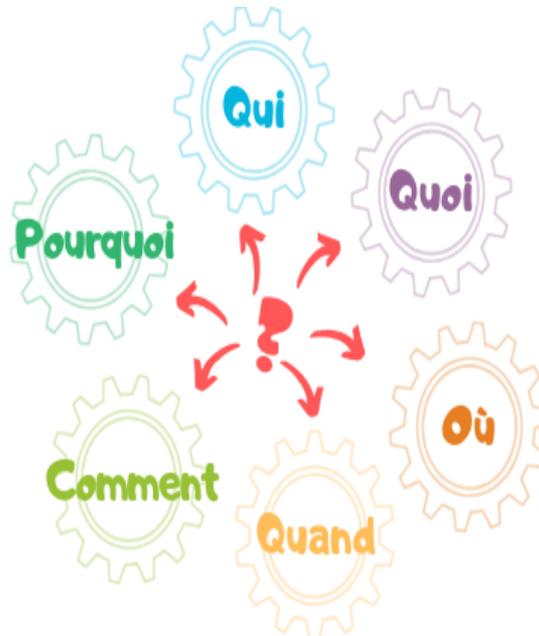
Solution

Une stratégie Nationale en Métrologie chimique assurant la traçabilité métrologique des résultats des laboratoires tunisiens et de démontrer leurs compétences pour répondre aux différentes exigences de sécurité alimentaire et aux directives environnementales.

LE BUT
Un Processus de progrès permanent



Bonne gestion des compétences



S'organiser pour réussir l'art de l'efficacité



Acquisition des outils puissants de succès de vente

La Stratégie Nationale de Métrologie chimique



L'INRAP est en cours de mettre en place une stratégie permettant d'atteindre la comparabilité métrologique des résultats de mesure : une exigence clé dans de nombreuses situations (le commerce transfrontalier, le secteur de la santé, la mise en œuvre transnationale de la réglementation environnementale: puisque les mesures en chimie jouent un rôle essentiel dans des domaines d'importance qui ont une incidence sur la qualité de notre vie, tels que *la santé, l'environnement et la qualité des aliments*).



Pour répondre au besoin national en terme de services métrologiques par la production:

- Des solutions d'étalonnage
- Des matériaux purs
- Des MRC à matrice

Production des Matériaux de
Références Certifiés



Feuille de route de l'INRAP pour l'élaboration d'une SNMic selon les Experts BIPM/AFRIMETS

1. Collecte Des Données

- **Questionnaire National:** décerner le besoin National en Mic surtout en MRCs (Solution détalonnage, Matériaux Purs et MRC à matrice).
- **Template fourni par BIPM:** définir les mesurandes et l'incertitude de mesure des laboratoires tunisiens par analytes et par matrice. Définir le degré de raccordement des laboratoire au SI.
- **Statistiques export, Import et marché local :** taux et causes de rejets des produits, réglementation de contrôles

2. Rédaction SNMic

- **Compilation des données et priorisation** des besoins nationaux en Mic
- **Concrétisation de la chaine de traçabilité nationale en Mic** avec l'assurance de la traçabilité SI en tant que ID
- **Assurance d'une IQ et de Mesure performante en commerce International**

3. Présentation SNMic

- **Présentation de la SNMic aux décideurs politiques pour appui, concrétisation et financement**
- **SNMic totalement conforme aux attentes du tissu national Industriel**



Accréditation ISO 17034:2016
Avancement LNMc



Implémentation QS

- Planification de:
- Formation LNE en ligne (**coordination avec TUNAC et PTB**);
- Assistance NMISA;



Unité gravimétrique

- Préparation de la salle
- Mise en place des tables anti-vibration
- Réception des balances; ampouling système et four à vide (juin2021)



Développement des méthodes de production

- Acquisition en cours des: MRcs consommables
- Application des guides BIPM de Production de solution étalon
- Évaluation de performance des méthodes spécifiques des laboratoires
- Participation en cours à des comparaisons clés pour la production des solutions d'étalonnage CCQM-K154.b.c.d



Infrastructure Actuelle Unité gravimétrique



Les efforts nationaux doivent se réunir pour l'appui de cette unité gravimétrique afin de garantir le succès d'un tel projet.

Merci pour votre attention

« COVID-19:

Quality & measures infrastructure helps to mitigate the negative effects of the covid-19 crisis and ensures the provision of essential services »

Quality and Standards in the fight against covid-19-UNIDO

Journée mondiale
de la métrologie



**Mesurer
pour la santé**



20 mai 2021
www.worldmetrologyday.org