

Résultats d'évaluation de la performance en analytique
pour la détection du SARS-CoV-2 dans le cadre de l'épidémie de COVID-19
comparaison avec la technique de référence du CNR IPP

Evaluation réalisée les 02 et 03.04.2020

Nom du Kit : BioGX SARS-CoV-2 Open System Reagents for BD MAX™

(REF : 350-093-C-MAX)

Fournisseur : Launch Diagnostics

Laboratoire Investigateur

Pr Bruno Lina

Laboratoire associé au Centre National de Référence des virus des infections respiratoires

Institut des Agents infectieux

Centre de Biologie et Pathologie Nord

Groupement Hospitalier Nord

103 boulevard de la Croix-Rousse

69317 Lyon CEDEX 04

FRANCE

Dr Vanessa Escuret (vanessa.escuret@chu-lyon.fr)

Tel : 04 72 07 10 35

Correspondant

Jaqueline COMBRISON

Responsable Commerciale Grand-Est

Launch Diagnostics SAS



OBJECTIFS

L'objectif de l'évaluation est de tester la sensibilité analytique et a minima la spécificité du test mentionné ci-dessus, pour la détection du SARS-CoV-2 par comparaison de la technique maison de référence utilisée au CNR de Lyon, à partir :

- de dilutions de culture de virus SARS-CoV-2 à différentes concentrations et
- d'échantillons respiratoires (pour tester l'effet de la matrice type prélèvement respiratoire sur le test) positifs ou négatifs pour le SARS-CoV-2 (mais positifs éventuellement pour d'autres virus respiratoires).

MATERIELS ET METHODES

Panel d'échantillons testés

- Surnageant de culture de cellules BGM infectées par SARS-CoV-2
 - échantillon 2020/715 ; récolte après 2 passages (présence d'effet cytopathique)
 - dilutions successives afin de couvrir une large gamme de Ct et d'atteindre une limite de détection
- Echantillons respiratoires de patients de différentes nature, positifs ou négatifs pour le SARS-CoV-2 (pour tester a minima l'effet matrice et la spécificité)
 - écouvillons naso-pharyngés (5 positifs, 3 négatifs)
 - liquide broncho-alvéolaire (1 positif), aspiration naso-pharyngée (1 positif)

Technique de référence CNR (site de Lyon)

Extraction avec EMAG® bioMérieux selon la technique du fournisseur à partir de 200µL de prélèvement ; éluat de 50µL

Détection de deux cibles en duplex (région RdRp) : amorces et sondes (IP2, IP4) (https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2)

SuperScript™ III Platinum® One-Step Quantitative RT-PCR System (Ref: Invitrogen 1732-020)

Amplifications sur QuantStudio™ 5 Applied Biosystems™ (à partir de 5µL d'éluat)

Technique évaluée : selon la notice du fournisseur

Principe du test : BioGX SARS-CoV-2 Open System Reagents for BD MAX™

Le test réalise l'extraction de l'ARN viral et utilise deux mix :

- l'un détecte **1 cible N1** (apparaissant en TOP au niveau du rendu final) située dans le gène N du SARS-CoV-2 ainsi que le **gène cellulaire RNase P**,
- le second mix détecte **1 cible N2** (apparaissant en BOT au niveau du rendu final) située dans le gène N du SARS-CoV-2 ainsi que le **gène cellulaire RNase P**.

Mise en œuvre :

- ajout de **500 µL** d'échantillon dans le tube de tampon de lyse du kit d'extraction BD MAX TNA-3, puis le tube est vortexé au moins 10 secondes
- pas de prélèvement visqueux testé ici

RESULTATS

Numéro échantillon	BioGX SARS-CoV-2 Open System Reagents for BD MAX™					Technique de référence PCR Institut Pasteur; Extraction Emag; Amplification QS5			Type d'échantillon	Commentaires
	Résultat	(475/520) N1 (Ct)	(680/715) RNaseP (1) (Ct)	(475/520) N2 (Ct)	(680/715) RNase P (2) (Ct)	Résultat	IP2	IP4		
10-2	Positif	24,1	-1,0	23,0	-1,0	Positif	24,2	24,6	surageant de culture virale - dilution 10-2	Absence de cellules (surageant)
10-3	Positif	26,3	-1,0	26,4	-1,0	Positif	27,8	28,1	surageant de culture virale - dilution 10-3	Absence de cellules (surageant)
10-4	Positif	29,6	-1,0	30,1	-1,0	Positif	31,3	31,1	surageant de culture virale - dilution 10-4	Absence de cellules (surageant)
10-5 (1)	Positif	34,4	-1,0	33,2	-1,0	Positif	35,0	34,6	surageant de culture virale - dilution 10-5 (1)	Absence de cellules (surageant)
10-5 (2)	Positif	33,7	-1,0	31,7	-1,0	Positif	35,0	34,3	surageant de culture virale - dilution 10-5 (2)	Absence de cellules (surageant)
10-5 (3)	Positif	33,9	39,3	32,7	38,5	Positif	34,8	35,0	surageant de culture virale - dilution 10-5 (3)	Rares cellules probables (surageant)
10-6 (1)	Positif	35,6	-1,0	39,9* faux signal	-1,0	Négatif	NEG	NEG	surageant de culture virale - dilution 10-6 (1)	*faux signal en N2
10-6 (2)	Négatif	-1,0	-1,0	-1,0	-1,0	Pos Lim	NEG	39,3	surageant de culture virale - dilution 10-6 (2)	Absence de cellules (surageant)
10-6 (3)	Positif	35,6	-1,0	39,4	-1,0	Pos Lim	39,7	NEG	surageant de culture virale - dilution 10-6 (3)	Absence de cellules (surageant)
10-7 (1)	Pos Lim	-1,0	-1,0	40,3	-1,0	Négatif	NEG	NEG	surageant de culture virale - dilution 10-7 (1)	Absence de cellules (surageant)
10-7 (2)	Négatif	-1,0	-1,0	-1,0	-1,0	Pos Lim	42,1	39,5	surageant de culture virale - dilution 10-7 (2)	Absence de cellules (surageant)
10-7 (3)	Négatif	-1,0	37,3	-1,0	-1,0	Négatif	NEG	NEG	surageant de culture virale - dilution 10-7 (3)	Rares cellules probables (surageant)
200505532 – 111-83	Positif	23,7	23,8	23,8	24,0	Positif	24,2	25,3	liquide broncho alvéolaire	
200495446 – 99-84	Positif	26,0	24,3 *	32,9* faux signal	20,1 *	Positif	27,3	26,0	aspiration naso-pharyngée	*signal redescend en RNase P (1) *faux signal en N2, et *en RNase P (2)
200509979 – 114-73	Positif	23,7	20,0	24,6	20,3	Positif	25,3	24,2	écouvillon naso-pharyngé	
200508038 – 113-9	Positif	24,6	25,8	25,9	25,2	Positif	27,8	29,0	écouvillon naso-pharyngé	
200508756 – 113-48	Positif	33,0	24,8	34,8	25,1	Positif	30,9	30,1	écouvillon naso-pharyngé	
200504313 – 109-31	Positif	31,2	23,6	31,0	23,6	Positif	33,0	32,7	écouvillon naso-pharyngé	
200500967 – 106-52	Positif	31,7	24,2	32,3	25,0	Positif	35,2	36,1	écouvillon naso-pharyngé	
200524290 – 126-96	Négatif	-1,0	21,8	-1,0	21,9	Négatif	NEG	NEG	écouvillon naso-pharyngé	Virus influenza B (Ct 21,3) Hologic
200524606 – 127-5	Négatif	-1,0	26,4	-1,0	26,6	Négatif	NEG	NEG	écouvillon naso-pharyngé	VRS (Ct 23,1) Hologic
200510124 – 114-56	Négatif	-1,0	23,7	-1,0	23,8	Négatif	NEG	NEG	écouvillon naso-pharyngé	Virus influenza A (Ct 23,6) Hologic

Abréviations : Pos Lim : Positif en limite de détection

La technique de référence du CNR détecte l'ARN viral du SARS-CoV-2 :

- pour les dilutions 10^{-2} à 10^{-4} sur les deux cibles ;
- pour les trois dilutions 10^{-5} sur les deux cibles ;
- pour les trois dilutions 10^{-6} , seules deux dilutions sont détectées ($Ct \geq 39$) avec l'une des cibles,
- pour les trois dilutions 10^{-7} , seule une dilution est détectée ($Ct > 39$) avec les deux cibles.

Le test Viasure SARS-CoV-2 de CerTest sur BD MAX™ détecte l'ARN viral du SARS-CoV-2 :

- pour les dilutions 10^{-2} à 10^{-4} sur les deux cibles ;
- pour les trois dilutions 10^{-5} sur les deux cibles ;
- pour les trois dilutions 10^{-6} testées, détection de deux dilutions (sur 2 cibles dans un cas, dans l'autre présence d'un faux signal sur la cible N2);
- pour les trois dilutions 10^{-7} testées, détection d'une dilution (Ct à 40,3 cible N2)

Les Ct sont similaires des Ct obtenus en IP2/IP4 pour les gammes de dilution de virus testés et pour les prélèvements respiratoires testés.

Le test BioGX SARS-CoV-2 Open System Reagents for BD MAX™ présente :

- une sensibilité similaire à celle de la technique de référence CNR IPP (testée à Lyon)
- il n'a pas été observé de réaction croisée avec d'autres virus respiratoires (sur 3 échantillons testés)
- il est juste important de bien visualiser les courbes car la ligne de base est fixée automatiquement et certaines courbes sont rendues positives alors que le signal n'est pas exponentiel et non spécifique

Le test est facile d'utilisation et dure environ 150 minutes ou plus selon le nombre d'échantillons testés (146 minutes pour 6 échantillons).

CONCLUSIONS

Le Centre National de Référence des Virus des Infections Respiratoires considère que le kit soumis peut être utilisé pour la détection du SARS-CoV-2 dans le cadre de l'épidémie de COVID-19 que connaît actuellement la France.