

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

Nom du Kit : Xpert® Xpress SARS-CoV-2 RUO (Référence : 900-0883)

Fournisseur : Cepheid®

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

Pierre Le Roux, PhD

Senior Manager, Medical & Scientific Affairs

Cepheid

OBJECTIFS

L'objectif de l'évaluation est de tester la sensibilité analytique et à 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 à minima l'effet matrice et la spécificité)
 - écouvillons naso-pharyngés (3 positifs, 3 négatifs)
 - échantillons respiratoires profonds (1 liquide broncho-alvéolaire et 1 aspiration naso-pharyngée positifs)

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 : Xpert® Xpress SARS-CoV-2 RUO (Référence : 900-0883)

Le test RUO détecte 3 cibles du SARS-CoV-2 situés dans les gènes RdRp, E, N2, ainsi qu'un contrôle interne (SPC)

Mise en œuvre :

- ajout de 300 μ L d'échantillon dans le dispositif de test
- pour les prélèvements visqueux : dilution de 300 μ L d'échantillon + 3mL de PBS avec billes, vortexage, puis prise d'essai de 300 μ L dans le dispositif de test

RESULTATS

Numéro échantillon	Xpert® Xpress SARS-CoV-2 RUO (Cepheid®)					Technique de référence PCR Institut Pasteur; Extraction Emag; Amplification QS5			Type d'échantillon	Commentaires
	Résultat	Ct (RdRP)	Ct (E)	Ct (N2)	Ct (SPC)	Résultat	IP2	IP4		
10-2	POSITIF	30,3	25,1	27,6	28,4	Positif	24,2	24,6	surageant de culture virale - dilution 10-2	
10-3	POSITIF	32,7	28,6	31,1	28,4	Positif	27,8	28,1	surageant de culture virale - dilution 10-3	
10-4	POSITIF	36,8	31,5	34,5	28,3	Positif	31,3	31,1	surageant de culture virale - dilution 10-4	
10-5 (1)	POSITIF	0,0	35,3	38	28,8	Positif	35,0	34,6	surageant de culture virale - dilution 10-5 (1)	
10-5 (2)	POSITIF	0,0	36	39,2	28,9	Positif	35,0	34,3	surageant de culture virale - dilution 10-5 (2)	
10-5 (3)	POSITIF	0,0	35,9	38,4	28,5	Positif	34,8	35,0	surageant de culture virale - dilution 10-5 (3)	
10-6 (1)	POSITIF	0,0	38	42,1	28,8	Négatif	NEG	NEG	surageant de culture virale - dilution 10-6 (1)	
10-6 (2)	POSITIF	0,0	38,7	41,8	28,5	Positif	NEG	39,0	surageant de culture virale - dilution 10-6 (2)	
10-6 (3)	POSITIF	0,0	0,0	44,5	28,5	Positif	39,75	NEG	surageant de culture virale - dilution 10-6 (3)	
10-7 (1)	NEGATIF	0,0	0,0	0,0	28,7	Négatif	NEG	NEG	surageant de culture virale - dilution 10-7	
200510195 - 114-62	POSITIF	29,4	25,8	28,3	27,8	Positif	25,3	24,7	écouvillon naso-pharyngé	
200509220 - 113-45	POSITIF	31,4	28,9	31,4	28,4	Positif	27,8	27,2	écouvillon naso-pharyngé	
200509112 - 114-04	POSITIF	0,0	33,3	37,3	28,5	Positif	34,7	37,0	écouvillon naso-pharyngé	
200505456 - 112-32	POSITIF	32,0	28,0	30,7	28,2	Positif	25,0	25,0	liquide broncho-alvéolaire	Dilution au 1/10 du prélèvement par rapport au test de référence
200501861 - 106-100	POSITIF	40,2	31,4	34,5	28,5	Positif	28,4	29,3	aspiration naso-pharyngée	Dilution au 1/10 du prélèvement par rapport au test de référence
200508801 - 113-89	NEGATIF	0,0	0,0	0,0	28,3	Négatif	NEG	NEG	écouvillon naso-pharyngé	VRS (Ct : 21,4) - Panther Hologic
200506068 - 111-10	NEGATIF	0,0	0,0	0,0	28,5	Négatif	NEG	NEG	écouvillon naso-pharyngé	Virus Influenza A(H3N2) - Biofire
200524771 - 128-10	NEGATIF	0,0	0,0	0,0	28,4	Négatif	NEG	NEG	écouvillon naso-pharyngé	Virus influenza B (Ct :31,0) - Panther Hologic

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

- pour les dilutions 10^{-2} à 10^{-4} ;
- 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.

Le kit Xpert Xpress SARS-CoV-2 RUO (Cepheid®) était valide pour tous les échantillons testés avec une détection du contrôle interne correcte. Il détecte l'ARN viral du SARS-CoV-2 :

- pour les dilutions 10^{-2} à 10^{-4} sur les 3 cibles ;
- pour les trois dilutions 10^{-5} , sur les deux cibles E et N2 ; par contre la cible dans RdRp ne détecte plus l'ARN viral à partir de la dilution 10^{-5} ;
- pour les trois dilutions 10^{-6} , sur au moins une cible.

La sensibilité de la RT-PCR ciblant E paraît identique à celle du CNR ciblant IP2/IP4; la sensibilité de la RT-PCR ciblant N2 paraît décalée d'environ 3 Ct par rapport à la cible E. La RT-PCR ciblant RdRp est moins sensible.

Le kit Xpert® Xpress SARS-CoV-2 RUO (Cepheid®) présente :

- une sensibilité identique à supérieure 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)

Le test est très facile d'utilisation et dure 50 minutes.

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.