

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 : test Viasure SARS-CoV-2 de CerTest sur BD MAX™

Fournisseur : BD

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



David Menahem

Product Manager and Clinical Affairs Specialist

BD Life Sciences – Integrated Diagnostic Solutions

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)
 - aspiration naso-pharyngée (2 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 : test Viasure SARS-CoV-2 de CerTest sur BD MAX™

Le test réalise l'extraction de l'ARN viral et détecte 1 cible située dans le gène S du SARS-CoV-2 ainsi qu'un contrôle interne (IC)

Mise en œuvre :

- ajout de 200 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	Test Viasure SARS-CoV-2 de CerTest sur BD MAX™			Technique de référence PCR Institut Pasteur; Extraction Emag; Amplification QS5			Type d'échantillon	Commentaires
	Résultat	(475/520) Gène S (Ct)	(530/565) CI (Ct)	Résultat	IP2	IP4		
10-2	Positif	27,7	25,2	Positif	24,2	24,6	surageant de culture virale - dilution 10-2	
10-3	Positif	30,1	24,5	Positif	27,8	28,1	surageant de culture virale - dilution 10-3	
10-4	Positif	34,6	24,1	Positif	31,3	31,1	surageant de culture virale - dilution 10-4	courbe de fluorescence irrégulière
10-5 (1)	Positif	35,6	24,2	Positif	35,0	34,6	surageant de culture virale - dilution 10-5 (1)	courbe de fluorescence irrégulière
10-5 (2)	Indéterminé	-1	23,3	Positif	35,0	34,3	surageant de culture virale - dilution 10-5 (2)	Noté « SP success » mais : la courbe du CI redescend, pas d'amplification exponentielle Code erreur : « PCR- Warning Reader saturation » : d'où résultat indéterminé
10-5 (3)	Négatif	-1	24,7	Positif	34,8	35,0	surageant de culture virale - dilution 10-5 (3)	
10-6 (1)	Négatif	-1	24,3	Négatif	NEG	NEG	surageant de culture virale - dilution 10-6 (1)	
10-6 (2)	NR	NR	NR	Pos Lim	NEG	39,3	surageant de culture virale - dilution 10-6 (2)	non testé
10-6 (3)	NR	NR	NR	Pos Lim	39,7	NEG	surageant de culture virale - dilution 10-6 (3)	non testé
0200489437 094-44	Positif	24,2	24,5	Positif	24,0	24,2	aspiration naso-pharyngée	
0200509572 114-7	Positif	26,8	24,9	Positif	25,8	24,4	écouvillon naso-pharyngé	
0200506031 112-39	Positif	25,8	24,3	Positif	27,8	27,7	écouvillon naso-pharyngé	
0200506155 112-31	Positif	30,3	24,1	Positif	30,4	30,9	écouvillon naso-pharyngé	
0200503753 109-28	Positif	33,1	25,1	Positif	32,2	32,1	écouvillon naso-pharyngé	
0200505384 110-92	Négatif	-1	24,8	Positif	35,2	34,8	aspiration naso-pharyngée	
0200503729 108-7	Négatif	-1	24,6	Positif	35,6	35,6	écouvillon naso-pharyngé	
0200514256 117-40	Négatif	-1	24,4	Négatif	NEG	NEG	écouvillon naso-pharyngé	Virus influenza A (Ct 26,4) Hologic
0200528405 131-4	Négatif	-1	25,0	Négatif	NEG	NEG	écouvillon naso-pharyngé	VRS (Ct 23,1) Hologic
0200451370 72-14	Négatif	-1	24,9	Négatif	NEG	NEG	écouvillon naso-pharyngé	Virus influenza B (Ct 15,2) Hologic

Abréviations : NR : Non Réalisé ; 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.

Le test Viasure SARS-CoV-2 de CerTest sur BD MAX™ 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} ;
- pour une des trois dilutions 10^{-5} testées (une des dilutions n'a pas permis d'avoir un résultat interprétable, l'autre a été détectée négative) ;
- une seule dilution 10^{-6} a été testée car d'après les résultats préliminaires transmis par le CHU de St Etienne (Dr Sylvie Pillet) nous avons connaissance d'une limite de détection à partir d'un Ct en IP2/IP4 à 35.

On observe un décalage d'environ 2 à 3 Ct par rapport au Ct obtenu en IP2/IP4 avec la technique du CNR pour les dilutions des surnageants de culture de virus. Par contre les Ct sont proches des Ct obtenus en IP2/IP4 pour les prélèvements respiratoires ayant un $Ct < 35$. Cependant deux prélèvements respiratoires détectés positifs avec un Ct en IP2/IP4 à 35,2/34,8 et à 35,6/35,6 n'ont pas été détectés.

Le test Viasure SARS-CoV-2 de CerTest sur BD MAX™ présente :

- une sensibilité légèrement inférieure à celle de la technique de référence CNR IPP (testée à Lyon) avec un possible défaut de détection pour les prélèvements faiblement positifs ($Ct \geq 35$) ;
- ne détecte à ce jour qu'une cible dans le gène S, une nouvelle version du test détectant une 2nd cible virale est en cours de développement ;
- il n'a pas été observé de réaction croisée avec d'autres virus respiratoires (sur 3 échantillons testés)

Le test est facile d'utilisation et dure 150 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.