

**Evaluation ds performances analytiques du test**

**VitaPCR™ SARS-CoV-2 Assay, BIOSYNEX**

**Pour la détection du SARS-CoV-2 dans le cadre de l'épidémie de COVID-19**

**Mars 2020**

**Nom du Kit** : VitaPCR™ SARS-CoV-2 Assay

**Fournisseur** : BIOSYNEX

**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 Emilie Frobert** (emilie.frobert@chu-lyon.fr)

**Pauline Tirard-Collet** (pauline.tirard-collet@chu-lyon.fr)

**Correspondant**

Raphaël Dupont (PhD) (dupont@biosynex.com)

BIOSYNEX S.A., 22 boulevard Sébastien Brant, 67400 Illkirch Graffenstaden, France

## I. 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
- échantillons respiratoires positifs ou négatifs pour le SARS-CoV-2 (mais positifs éventuellement pour d'autres virus respiratoires).

## II. Principe du test VitaPCR™ SARS-CoV-2 Assay

Test unitaire de biologie moléculaire sur automate dédié de petite taille

Pas d'extraction, uniquement lyse de l'échantillon

Rendu des résultats en 20 min

Amplification et détection qualitative de l'ARN du SARS-CoV-2 par RT-PCR en temps réel, ciblant :

- Une séquence spécifique du SARS-CoV2 : gène de la nucléocapside N
- Une séquence conservée SARS-like (dont SARS-CoV-2, SARS-CoV, SARS-like coronavirus de chauve-souris) : également gène N
- Contrôle cellulaire : gène  $\beta$ -globuline humaine (HBB) (sample adequacy control ou SAC)

Cible	Fluorochrome
Région du gène N SARS-like (Cible 1)	VIC
Région du gène N spécifique SARS-CoV-2 (Cible 2)	FAM
Contrôle cellulaire (B-globuline humaine)	ROX

## III. Matériel et méthodes

Panel d'échantillons testés :

- Surnageants de culture sur cellules BGM infectées par SARS-CoV-2
  - o Echantillon 2020/715 : récolte après 2 passages
  - o Dilutions successives afin de couvrir une large gamme de Ct et d'atteindre une limite de détection
- Prélèvements de patients en rétrospectif :
  - o 7 prélèvements positifs dont écouvillons nasopharyngés et 2 aspirations
  - o 3 prélèvements négatifs mais positifs pour un autre virus (GA, GB, VRS)
- Prélèvements de patients en prospectif-like :
  - o 15 échantillons

Comparaison avec technique de référence du CNR (site de Lyon) :

- Extraction avec EMAG® bioMérieux selon la technique du fournisseur à partir de 200µL de prélèvement, élution dans 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](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)

#### Mise en œuvre du test VitaPCR™ SARS-CoV-2 Assay :

- Instrument VitaPCRTM
- Cônes de réaction
- Tampon de recueil d'échantillon (tampon de lyse)
- Stabilité en tampon de recueil : 10 min à RT, 2h à +4°C
- A partir des surnageants de culture et prélèvements de patients en rétrospectif :
  - o Prise d'essai de 100 µl
  - o Décharger ces 100 µl dans le tampon de lyse
  - o En prendre 30 µl : les déposer dans la cupule de PCR où se trouvent les réactifs lyophilisés
  - o Aspirer et refouler 10 fois
  - o Charger dans l'automate
- A partir des prélèvements de patients en prospectif-like :
  - o Tremper l'écouvillon dans le prélèvement (LBA, ATB, crachat)
  - o Décharger l'écouvillon en tampon de lyse, 15 rotations et appui contre le bord
  - o Vortexer ou retourner 10 fois
  - o En prendre 30 µl : les déposer dans la cupule de PCR où se trouvent les réactifs lyophilisés
  - o Aspirer et refouler 10 fois
  - o Charger dans l'automate

## IV. Résultats

### 1. Surnageants de culture

Dilutions	Ct IP2/IP4 Pasteur	Ct VITA PCR (Cible 1/ Cible 2 /SAC)
<b>10<sup>-2</sup></b>	24.2 / 24.6	38 / 39 / 0
<b>10<sup>-3</sup></b>	27.8 / 28.1	0/ 37 /0
<b>10<sup>-4</sup></b>	31.3 /31.1	0/ 0/ 0
<b>10<sup>-5</sup></b>	34.9 / 34.6	Non passée
<b>10<sup>-5</sup></b>	35 / 34.3	Non passée
<b>10<sup>-5</sup></b>	34.8 / 35	Non passée

$10^{-6}$	neg	Non passée
-----------	-----	------------

Conclusion :

Essai peu concluant : probable problème de sensibilité, problème d'inhibition par le milieu car non validé par le fabricant ??? Essais en cours par Biosynex sur le milieu EMEM.

Remarque : le SAC ne sort pas car cible cellulaire et non contrôle interne

## 2. Évaluation de 10 prélèvements cliniques en rétrospectif

7 prélèvements positifs :

n° Glims	Ct IP2	Ct IP4	Type de prélèvement	Date de prélèvement	Ct Vita PCR (Cible 1/ Cible 2 /SAC)
020055457901	16	Cobas	NG	30/03/2020	23/ 25/ 0 Courbes OK
0200489437	24	24,21	NAPH	16/03/2020	36/ 37/ 30 Courbes OK
0200505384	35,17	34,8	NAPH	18/03/2020	0 /0 / 37 Aspect +/-
0200509572	25,8	24,4	NG	19/03/2020	37/ 39 /36 Aspect +/-
0200506031	27,8	27,7	NG	19/03/2020	39/0/29 Courbes OK
0200506155	30,39	30,89	NG	19/03/2020	0/0/30 Courbes OK
0200503753	32,2	32,1	NG	18/03/2020	0/0/33 Aspect +/-
0200503729	35,6	35,6	NG	18/03/2020	0/0/32 OK

3 prélèvements négatifs :

n°	Ct IP2	Ct IP4	Type de prélèvement	Date de prélèvement	Ct Vita PCR
0200514256	Neg cobas	Neg cobas	NG (GRA)	20/03/2020	0/0/31 Courbes OK
0200528405	neg cobas	neg cobas	NG (VRS)	24/03/2020	0/0/29 Courbes OK
0200451370	NEGHOL	neg HOL	NG (GRB)	10/03/2020	0/0/29 Courbes OK

Conclusion :

Moindre sensibilité avec cette prise d'essai :

- Les 3 positifs ont des Ct avec la PCR de référence à 16, 24 et 25.
- Les autres Ct de 27, 30, 32 et 35 ne sortent pas.
- En comparaison, avec le même protocole, le test Grippe FluA/B VitaPCR sortait les prélèvements ayant des Ct (avec la technique du CNR) jusqu'à 30 (voire 32 selon de sous-type).

Pas d'aspécificité (sur 3 prélèvements positifs en GA, GB et VRS)

Point de vigilance : Attention à la reprise du réactif lyophilisé : à homogénéiser absolument sinon les tests sortent invalides.

Point positif : résultat rapide (20min) et simple d'interprétation (interprétation par l'automate)

### **3. Prélèvements de patients en prospectif-like**

Conclusion :

Moindre sensibilité du test VitaPCR™ SARS-CoV-2 Assay :

- En moyenne : écart de 10 Ct
- « Cut-off » environ à Ct 26-27
- Résultats concordants avec l'étude en rétrospectif

N° GLIMS	nature	VITA PCR				Ct Cobas			Ct PCR CNR		Diff T1/IP4 - SARS CoV2
		SARS CoV2	SARS like	SAC	Allure courbe	T1	T2	CI	IP2	IP4	
20056576901	expectoration	0	0	28	OK	neg	neg				
200566586	LBA	32	31	31	OK	26,5	26,9	33,5			5,46
200566293	ATB	0	0	31	OK	neg	neg				
20056639601	LBA	30	29	32	OK	21,8	21,7	34,8			8,22
20056588001	ATB	0	0	28	OK	29,29	31,98	36,1			
20057214301	ATB	31	32	31	OK	23,6	24,0	34,1			
20057082601	ATB	0	0	21	ok	neg	neg				
20056810602	LBA	33	32	27	OK	23,8	24,5	25,3			
20057155701	LBA	0	0	33	OK	neg	neg				
20057219501	ATB	0	0	29	OK	neg	neg				
20057219901	ATB	33	32	27	OK				21,4	21,4	11,61
20057223601	ATB	33	33	28	+ ou -				22,6	23,3	9,71
20057221301	ATB	29	29	22	+ ou -				15,5	15,9	13,1
20057225001	ATB	0	0	28	OK				neg	neg	
20057226901	ATB	0	0	26	OK				neg	neg	

limite à 26 ou 27

9,62

#### **4. Projet d'étude prospective à la médecine du travail**

Après extractions sur les UF de la médecine du travail, il apparaît que la moyenne des Ct est à 23 [12.9-31.1] avec les techniques de référence CNR et COBAS. Ce test VITA PCR permettrait de détecter 84% des positifs. 6 échantillons positifs sur 39 auraient été non diagnostiqués.

Au regard de ces chiffres, il paraît pertinent d'évaluer ce test en prospectif afin de déterminer si ce test à sa place dans le diagnostic du COVID-19 directement au sein des services cliniques comme les services de médecine du travail.

Soumission à la DRCI des HCL le 03/04/2020

#### **CONCLUSIONS**

Le Centre National de Référence des Virus des Infections Respiratoires considère que ce test manque de sensibilité par rapport à la technique de référence. Cependant, de par sa rapidité et sa spécificité, il est informatif en cas de résultat positif. Son positionnement se situe entre les tests de biologie moléculaire et les tests rapides antigéniques.