

Evaluation de la performance analytique du test
Aptima™ SARS-CoV-2 Assay (Panther™ System)

18/05/2020

Nom du Kit : Aptima™ SARS-CoV-2 Assay

Automate : Panther™ System

Fournisseur : HOLOGIC®

Laboratoire Investigateur :

Pr Bruno Lina

Laboratoire de Virologie
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)

Dr Genevieve Billaud (genevieve.billaud@chu-lyon.fr)

Pr Florence Morfin (florence.morfin@chu-lyon.fr)

Correspondants :

Audrey Estampes-Barthélemie (audrey.estampes-barthelemie@hologic.com)

Marketing Manager, Diagnostics

Virginie Tichanné, PhD (virginie.tichanne@hologic.com)

Molecular Field Application Specialist, France



I. 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.

L'évaluation a été conduite 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

La spécificité du kit par rapport à d'autres souches de coronavirus et d'autres virus n'a pas été évaluée.

II. Principe de la détection :

Il s'agit d'un test de biologie moléculaire reposant sur le principe de la TMA (Transcription Mediated Amplification) permettant une détection qualitative du Sars-CoV-2.

Les échantillons sont transférés directement dans les tubes dédiés Specimen Lysis Tube Panther Fusion® (Hologic).

Le test cible 2 séquences dans le gène ORF1ab et contient un contrôle interne.

La durée du run est de 3h30.

III. Matériel et méthodes

Panel d'échantillons testés :

- Surnageants de culture sur cellules BGM infectées par SARS-CoV-2 (n=15) :
 - 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
 - o Les dilutions 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} et 10^{-8} sont passées en triplicate dans la technique évaluée
- Echantillons respiratoires positifs (n=20) ou négatifs (n=3) pour le SARS-CoV-2 dont 1 positif en rhinovirus

Technique de référence IP 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™

Mise en œuvre :

Technique évaluée selon la notice du fournisseur

Ajout de 200 µL de l'échantillon dans le tube Aptima. Le fournisseur recommande 500µl.

Chargement en random access sur l'automate

IV. Résultats

Table 1 : Surnageants de culture sur cellules BGM infectées par SARS-CoV-2, souche 715/P2

Dilutions	Pasteur CNR			Aptima™ SARS-CoV-2
	Ct IP2	Ct IP4	Résultat	Résultat
10-2	18,5	17,7	Positif	Positif
10-3	20,6	20,8	Positif	Positif
10-4	24,7	24,2	Positif	Positif
10-5	28,6	28,4	Positif	Positif
10-5	NR	NR	NR	Positif
10-5	NR	NR	NR	Positif
10-6	31,9	31,3	Positif	Positif
10-6	NR	NR	NR	Positif
10-6	NR	NR	NR	Positif
10-7	35,2	33,8	Positif	Positif
10-7	NR	NR	NR	Négatif
10-7	NR	NR	NR	Négatif
10-8	0	36,2	Positif	Négatif
10-8	NR	NR	NR	Négatif
10-8	NR	NR	NR	Négatif

NR : non réalisé

Table 2 : Prélèvements respiratoires

ID	Nature	Pasteur CNR			Aptima™ SARS-CoV-2
		Ct IP2	Ct IP4	Résultat	Résultat
357.24	ENP	0,0	0,0	Négatif	Négatif
357.31	ENP	0,0	0,0	Négatif	Négatif
358.09 RHV+ (Ct 30,1)	ENP	0,0	0,0	Négatif	Négatif
352.64	ENP	19,9	20,4	Positif	Positif
359.13	ENP	22,3	22,7	Positif	Positif
348.92	ENP	25,2	25,7	Positif	Positif
360.53	ENP	26,0	26,6	Positif	Positif
353.07	ENP	26,0	26,9	Positif	Positif
350.51	ENP	26,6	27,3	Positif	Positif
355.78	ENP	27,7	28,0	Positif	Positif
355.100	TRBR	28,7	29,7	Positif	Positif
353.80	ENP	28,7	29,8	Positif	Positif
345.61	ENP	28,7	29,9	Positif	Positif
358.13	ENP	29,1	30,8	Positif	Positif
355.67	ENP	31,3	32,3	Positif	Positif
349.57	ENP	32,3	32,9	Positif	Positif
356.57	ENP	31,8	33,0	Positif	Positif
365.79	LBA	32,9	33,9	Positif	Positif
359.30	ENP	34,0	34,9	Positif	Positif
352.72	ENP	33,9	35,4	Positif	Positif
360.02	ENP	35,5	0,0	Positif	Positif
357.68	ENP	36,1	0,0	Positif	Négatif
353.20	ENP	0,0	38,6	Positif	Positif

ENP : écouvillon naso-pharyngé ; LBA : lavage bronchoalvéolaire ; TRBR : aspiration bronchique ; RHV : rhinovirus

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

- pour les dilutions du virus (Table 1):
 - o 10^{-2} à 10^{-7} sur les deux cibles ;
 - o pour la dilution 10^{-8} : une des 2 cibles sort positive mais avec une intensité de fluorescence plus faible
- pour les prélèvements (Table 2):
 - o l'ensemble de ces prélèvements ayant des Ct de 20.4 à 38.6
 - o Le prélèvement #360.02 n'est détecté que dans la cible IP2 (Ct 35.5)
 - o Le prélèvement #357.68 n'est détecté que dans la cible IP2 (Ct 36.1)
 - o Le prélèvement #353.20 n'est détecté que dans la cible IP4 (Ct 38.6)

Le test Aptima™ SarsCoV2 détecte :

Pour les dilutions de virus (Table 1) :

- Jusqu'à la dilution 10^{-6} : l'ensemble des dilutions virales sont détectées
- Pour la dilution 10^{-7} (triplicate): une détection positive sur 3 passages
- Pour la dilution 10^{-8} (triplicate): aucune dilution détectée

Pour les prélèvements (Table 2):

- Ct compris entre 20 et 30 (n=10) : les 10 prélèvements sont détectés positifs par le test Aptima™ SARS-CoV-2
- Ct compris entre 30.8 et 34.9 (n=6) : les 6 prélèvements sont détectés positifs par le test Aptima™ SARS-CoV-2
- Ct compris au-delà de 35 (n=4) : 3 prélèvements sont détectés positifs par le test Aptima™ SARS-CoV-2. L'échantillon non détecté présente un Ct à 36.1 en IP2 uniquement (#357.68). A noter que l'échantillon ayant un Ct à 35.5 en IP2 uniquement (#360.02) et l'échantillon ayant un Ct à 38.6 (353.20) en IP4 uniquement ont été détectés positifs par le test Aptima™ SARS-CoV-2.
- Les prélèvements négatifs (n=3) sont sortis négatifs
- Le contrôle interne est systématiquement sorti « valide »

Au total, le test Aptima™ SARS-CoV-2 présente une sensibilité proche de celle de la technique de référence Pasteur CNR (Lyon).

CONCLUSION

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.