

**Résultats d'évaluation de la performance 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 le 03/06/2020

Nom du Kit : FTD™ SARS-CoV-2 (FTD-114-32) 11416300 CE IVD

Fabricant: Fast Track DIAGNOSTICS

Fournisseur : SIEMENS

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

OBJECTIFS

L'objectif de l'évaluation est de tester la sensibilité analytique 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
- de dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire

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 (*** nouvelles dilutions par rapport aux précédentes évaluations**)
- Un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire
 - dilutions successives dans un prélèvement nasopharyngé négatif pour le SARS-CoV-2 afin de couvrir une large gamme de Ct et d'atteindre une limite de détection

Technique de référence CNR (site de Lyon)

Extraction avec Nuclisens EasyMag® 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 :

- le test est **très simple à utiliser**
- il détecte **2 cibles** du SARS-CoV-2 (dans les gènes N et Orf1ab) ainsi qu'un **contrôle interne (IC)**
- les **2 sondes sont marquées par le même fluorochrome FAM** et un seul signal de fluorescence est détecté ; cela augmente le niveau de fluorescence et évite des signaux discordants comme souvent observé lorsque les PCR n'ont pas la même sensibilité, facilitant l'interprétation du résultat.

Mise en œuvre :

- Extraction avec Nuclisens EasyMag® bioMérieux selon la technique du fournisseur
 - o à partir de 200µL de prélèvement (dans 2mL de tampon de lyse) ;
 - o ajout de l'IC (2µL par tube) **après** les 10 minutes de lyse
 - o puis extraction sur EasyMag comme habituellement
 - o éluat de 50µL
- RT-PCR réalisée à partir de 10µL d'éluat ajouté dans 15µL de Master Mix.

RESULTATS

Numéro échantillon	Test FTD™ SARS-CoV-2 (Siemens)			Technique de référence PCR Institut Pasteur; Extraction E-mag; Amplification QS5			Type d'échantillon	Commentaires
	Résultat	Ct (N ou Orf1ab)	Ct (IC)	Résultat	IP2	IP4		
10-3	Positif	22,8	23,8	Positif	23,3	22,5	surageant de culture virale - dilution 10-3	
10-4	Positif	26,5	24,3	Positif	27,1	26,2	surageant de culture virale - dilution 10-4	
10-5	Positif	30,0	24,3	Positif	30,7	29,7	surageant de culture virale - dilution 10-5	
10-6 (A)	Positif	33,3	24,1	Positif	33,8	32,7	surageant de culture virale - dilution 10-6 (A)	
10-6 (B)	Positif	32,9	24,3	NR	NR	NR	surageant de culture virale - dilution 10-6 (B)	
10-6 (C)	Positif	33,3	24,2	NR	NR	NR	surageant de culture virale - dilution 10-6 (C)	
10-7 (A)	Pos Lim	38,1	24,3	Pos Lim	39,8	NEG	surageant de culture virale - dilution 10-7 (A)	
10-7 (B)	Positif	36,6	24,4	NR	NR	NR	surageant de culture virale - dilution 10-7 (B)	
10-7 (C)	Positif	36,6	24,2	NR	NR	NR	surageant de culture virale - dilution 10-7 (C)	
10-2	Positif	22,3	25,3	Positif	22,5	21,8	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
10-3	Positif	25,6	25,0	Positif	25,9	25,2	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
10-4	Positif	28,5	25,2	Positif	29,0	28,3	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
10-5 (A)	Positif	31,5	22,5	Positif	32,5	31,5	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
10-5 (B)	Positif	31,8	24,8	NR	NR	NR	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
10-5 (C)	Positif	33,3	24,6	NR	NR	NR	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
10-6 (A)	Positif	35,5	25,0	Positif	36,0	35,2	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
10-6 (B)	Positif	34,9	23,7	NR	NR	NR	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
10-6 (C)	Positif	35,6	25,2	NR	NR	NR	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
10-7 (A)	Pos Lim	38,4	24,5	Négatif	Négatif	Négatif	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
10-7 (B)	Positif	36,7	25,4	NR	NR	NR	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
10-7 (C)	Négatif	NEG	24,9	NR	NR	NR	Dilution prélèvement positif en SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	

Abréviations : Pos Lim : Positif en limite de détection, NR ; Non réalisé

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

- dilutions des surnageants de culture virale en EMEM :
 - o dilutions 10^{-3} à 10^{-6} sont toutes détectées,
 - o dilution 10^{-7} : détection d'une cible sur deux
- dilutions du prélèvement positif en matrice respiratoire :
 - o dilutions 10^{-2} à 10^{-6} sont bien détectées,
 - o dilutions 10^{-7} : aucune cible n'a été détectée

Le test FTD™ SARS-CoV-2 détecte l'ARN viral du SARS-CoV-2 :

- dilutions des surnageants de culture virale en EMEM :
 - o dilutions 10^{-3} à 10^{-7} sont toutes détectées;
- dilutions du prélèvement positif en matrice respiratoire :
 - o dilutions 10^{-2} à 10^{-6} sont bien détectées,
 - o dilutions 10^{-7} : détection de deux dilutions sur trois testées

La détection du **contrôle cellulaire était correcte dans l'ensemble des échantillons testés** (Ct de 22,5 à 25,4).

Globalement, le test FTD™ SARS-CoV-2 présente:

- des Ct similaires à la technique de référence CNR,
- une sensibilité légèrement supérieure à la technique de référence CNR (détection de la dilution 10^{-7} en matrice respiratoire non détectée par la technique de référence CNR IPP),
- une interprétation facile grâce à un même marquage des deux sondes (un seul signal de fluorescence pour le SARS-CoV-2).

Le test est facile d'utilisation et la RT-PCR dure 90 minutes (sans compter le temps nécessaire à l'extraction).

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.