

## Evaluation de la performance analytique du test

Expert 1S® SARS-CoV2

Genestore France

**Nom du Kit :** Expert 1S® SARS-CoV2

**Fournisseur :** Genestore France

### **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](mailto:emilie.frobert@chu-lyon.fr))

**Dr Vanessa Escuret** ([vanessa.escuret@chu-lyon.fr](mailto:vanessa.escuret@chu-lyon.fr))

### **Correspondant :**

Nathalie Compagnone, Ph.D

Product manager, GeneStore France

[nathalie.compagnone@genestore.eu](mailto:nathalie.compagnone@genestore.eu)

## **I. Objectif**

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.

L'évaluation a été conduite à partir de :

- dilutions de surnageant de culture de virus SARS-CoV-2 en EMEM à différentes concentrations et
- dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 dans une matrice type prélèvement respiratoire négative

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**

Ce kit réalise 2 RT-PCR en temps réel en parallèle.

La 1<sup>ère</sup> RT-PCR cible 2 gènes spécifiques du Sars-CoV-2:

- Gène N1 : marquage FAM
- Gène N2 : marquage HEX / VIC

La 2<sup>ème</sup> RT-PCR cible le gène de la RNase P, comme contrôle cellulaire :

- Gène RNase P : marquage FAM

La durée du run est de 1h05.

## **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 (présence d'effet cytopathique)
  - o Dilutions successives afin de couvrir une large gamme de Ct et d'atteindre une limite de détection
  - o Les dilutions  $10^{-6}$  et  $10^{-7}$  sont passées en triplicate
- Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 : dilutions successives dans une matrice type prélèvement respiratoire négative afin de couvrir une large gamme de Ct et d'atteindre une limite de détection

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](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 :

Technique évaluée selon la notice du fournisseur

L'extrait d'acide nucléique est le même que celui qui a servi à faire le test de référence (extraction à partir de 200µL de prélèvement respiratoire sur EMAG et élution dans 50µL)

Les 2 RT-PCR avec les mix N1/N2 et RNase P sont réalisées en parallèle sur la même plaque, avec le même programme.

Préparation du mix N1/N2 :

- selon le protocole du fabricant
- Dépôt de 15µL de mix N1/N2 par puits

Préparation du mix RNase P :

- selon le protocole du fabricant
- Dépôt de 15µL de mix N1/N2 par puits

Dépôt de 5µL d'extrait (ou témoin positif ou témoin négatif)

#### **IV. Résultats**

**Table 1 : Surnageants de culture sur cellules BGM infectées par SARS-CoV-2**

dilutions	Pasteur			Genestore			
	Ct IP2	Ct IP4	Résultat	Ct N1	Ct N2	Ct Rnase P	Résultat
10-3	23,9	23,1	Positif	22,8	22	37,8	Positif
10-4	28,2	27,5	Positif	26,7	26,7	0	Positif
10-5	31,5	30,5	Positif	29,6	30	38	Positif
10-6 A	35,2	34,5	Positif	33	33,9	0	Positif
10-6 B	NR	NR	NR	33,7	33,6	38,5	Positif
10-6 C	NR	NR	NR	33,8	33,6	0	Positif
10-7 A	40,6	38,3	Positif limite	0	44,2	0	négatif
10-7 B	NR	NR	NR	36,9	36,5	0	Positif limite
10-7 C	NR	NR	NR	37	0	0	Positif limite

signal trop faible  
courbe OK uniquement en log

**Table 2 : Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire**

dilutions	Pasteur			Genestore				
	Ct IP2	Ct IP4	Résultat	Ct N1	Ct N2	Ct Rnase P	Résultat	
10-2	23	22,3	Positif	22	22	22,9	Positif	
10-3	26,5	25,9	Positif	25,4	25,1	23	Positif	
10-4	29,9	29,3	Positif	28,9	28,5	23,1	Positif	
10-5 A	33,3	32,9	Positif	31,9	32,6	22,9	Positif	
10-5 B	NR	NR	NR	32,9	32,7	23	Positif	
10-5 C	NR	NR	NR	32,5	32,4	23	Positif	
10-6 A	37,6	36,1	Positif	36,1	39,1	23	Positif limite	fausse amplification
10-6 B	NR	NR	NR	36,4	37,6	23,2	Positif limite	fausse amplification
10-6 C	NR	NR	NR	35,3	37,6	23	Positif limite	fausse amplification
10-7 A	0	0	Négatif	0	0	22,8	négatif	
10-7 B	NR	NR	NR	37,9	43,1	22,8	Positif limite	fausse amplification
10-7 C	NR	NR	NR	0	42,2	22,8	négatif	fausse amplification

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

- pour les dilutions du virus (Table 1):
  - o  $10^{-3}$  à  $10^{-6}$  sur les deux cibles ;
  - o pour la dilution  $10^{-7}$  : sur les 2 cibles, positif en limite de détection (Ct 40.6/38.3)
- pour les dilutions du prélèvement positif en matrice respiratoires (Table 2):
  - o pour les dilutions  $10^{-2}$  à  $10^{-6}$  sur les deux cibles,
  - o pour la dilution  $10^{-7}$  : absence de détection

Le test Expert 1S® SARS-CoV2 de Genestore présente des courbes d'amplification sans ambiguïté pour le gène N1. Concernant le gène N2, les amplifications sont « crénelées » et certains signaux tardifs ne peuvent être interprétés comme positif. Les amplifications du contrôle cellulaire sont toutes interprétables (remarque : pas d'amplification dans les dilutions de virus en MEM normale du fait de l'absence de cellules humaines).

Le test Expert 1S® SARS-CoV2 de Genestore détecte :

- pour les dilutions du virus (Table 1):
  - o jusqu'à  $10^{-6}$  : toutes les dilutions sont détectées
  - o à  $10^{-7}$  : 2 dilutions sur 3 sont rendues « positif limite », le dernier triplicat étant négatif
- pour les dilutions du prélèvement positif en matrice respiratoires (Table 2):
  - o à  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  et  $10^{-5}$  (triplicate) : toutes les dilutions sont détectées sans ambiguïté, avec des Ct comparables à ceux de la technique de référence
  - o à  $10^{-6}$  : l'amplification N1 est conforme, N2 montrant de fausses amplifications, rendant ainsi les résultats à la limite de la positivité
  - o à  $10^{-7}$  : 1 dilution sur 3 est positive en N1, N2 montrant 2 fausses amplifications

Le test Expert 1S® SARS-CoV2 de Genestore présente une sensibilité légèrement inférieure à la technique de référence mais permet d'obtenir des résultats qualitatifs similaires. L'interprétation pour les signaux en N2 est malaisée.

## 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.