

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 les 08 et 09 septembre 2020

Nom du Kit : ID NOW COVID-19 (Emergency Use Authorization EUA only)

Fournisseur : Abbott

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
- Un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire
 - dilutions successives dans un prélèvement nasopharyngée 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 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 :

Principe du test ID NOW COVID-19 (EUA) :

- **très simple à utiliser**
- test moléculaire rapide (**≤ 13 minutes**) de type **POC (Point of Care)**
- permet de rendre un résultat qualitatif (rendu positif, négatif, ininterprétable)
- basé sur la technologie d'amplification isothermale **LAMP (loop-mediated isothermal amplification)**
- **une seule cible détectée (dans RdRp) et un contrôleur interne**

Mise en œuvre :

- le test doit normalement être réalisé à partir d'un écouvillonnage nasopharyngé ; comme nous ne disposons pas directement de ce type d'échantillon au laboratoire, **les analyses ont été réalisées à partir de 200µL d'échantillons en accord avec le fournisseur pour cette évaluation.**

RESULTATS

Numéro échantillon	Technique évaluée : ID NOW Abbott	Technique de référence PCR Institut Pasteur; Extraction E-mag; Amplification QS5			Type d'échantillon	Commentaires
	Résultat	Résultat	IP2	IP4		
10-3	Positif	Positif	23,3	22,6	urnageant de culture virale - dilution 10-3	
10-4	Positif	Positif	27,6	26,9	urnageant de culture virale - dilution 10-4	
10-5 (A)	Positif	Positif	30,6	30,1	urnageant de culture virale - dilution 10-5	
10-5 (B)	Positif	NR	NR	NR	urnageant de culture virale - dilution 10-5	
10-5 (C)	Positif	NR	NR	NR	urnageant de culture virale - dilution 10-5	
10-6 (A)	Positif	Positif	34,7	33,6	urnageant de culture virale - dilution 10-6	
10-6 (B)	Positif	NR	NR	NR	urnageant de culture virale - dilution 10-6	
10-6 (C)	Négatif	NR	NR	NR	urnageant de culture virale - dilution 10-6	
10-7 (A)	Négatif	Pos Lim	43,6	39,4	urnageant de culture virale - dilution 10-7	
10-7 (B)	Négatif	Pos Lim	39,6	Négatif	urnageant de culture virale - dilution 10-7	
10-7 (C)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	urnageant de culture virale - dilution 10-7	
10-8 (A)	Négatif	Pos Lim	43,3	40,9	urnageant de culture virale - dilution 10-8	
10-8 (B)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	urnageant de culture virale - dilution 10-8	
10-8 (C)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	urnageant de culture virale - dilution 10-8	
P0 10-2	Positif	Positif	22,6	21,9	Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
P0 10-3	Positif	Positif	25,7	25,1	Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
P0 10-4	Positif	Positif	29,6	29,0	Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
P0 10-5 (A)	Positif	Positif	33,7	32,6	Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
P0 10-5 (B)	Positif	NR	NR	NR		
P0 10-5 (C)	Négatif	NR	NR	NR		
P0 10-6 (A)	Négatif	Positif	39,9	36,4	Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
P0 10-6 (B)	Négatif	Positif	36,8	36,5	Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
P0 10-6 (C)	Négatif	Positif	36,8	36,1	Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
P0 10-7 (A)	Négatif	Pos Lim	39,4	Négatif	Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
P0 10-7 (B)	Négatif	Pos Lim	40,0	38,7	Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
P0 10-7 (C)	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 en matrice respiratoire	
07-002	Négatif	Positif	32,6	32,4	écouvillon naso-pharyngé	

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 surnageants de culture virale détection :
 - o pour les dilutions 10^{-3} à 10^{-6} sur les deux cibles;
 - o pour la dilution 10^{-7} en limite de détection (2 détections sur 3 tests)
 - o pour les dilutions 10^{-8} en limite de détection (1 détection sur 3 tests)
- pour les dilutions du prélèvement positif en matrice respiratoire détection :
 - o pour les dilutions 10^{-2} à 10^{-6} sur les deux cibles ;
 - o pour la dilution 10^{-7} , en limite de détection (2 détections sur 3 tests)

Le test ID NOW COVID-19 (EUA) détecte l'ARN viral du SARS-CoV-2 :

- pour les surnageants de culture virale détection :
 - o pour les dilutions 10^{-3} à 10^{-5} sur l'ensemble des passages testés
 - o pour la dilution 10^{-6} (Ct entre 33,6 et 34,7 avec la technique CNR) en limite de détection (2 détections sur 3 tests)
 - o pour les dilutions 10^{-7} et 10^{-8} : absence de détection
- pour les dilutions du prélèvement positif en matrice respiratoire détection :
 - o pour les dilutions 10^{-2} à 10^{-4} sur l'ensemble des passages testés
 - o pour la dilution 10^{-5} (Ct entre 32,6 et 33,7 avec la technique CNR) en limite de détection (2 détections sur 3 tests)
 - o pour les dilutions 10^{-6} et 10^{-7} : absence de détection

Le test ID NOW COVID-19 (EUA) présente :

- **une sensibilité inférieure à celle de la technique de référence CNR IPP** : des échantillons détectés avec des Ct compris entre 32 et 33 avec la technique de référence CNR IPP sont détectés deux fois sur 3 avec le test ID NOW COVID-19 (EUA).

CONCLUSIONS

En résumé, le test ID NOW COVID-19 (EUA) est un test type POC **très facile d'utilisation** qui dure au maximum 13 minutes. Il s'agit d'un test LAMP destiné à être utilisé directement à partir d'écouvillons naso-pharyngés. Le CNR n'a pas pu évaluer ce test directement à partir d'écouvillons naso-pharyngés mais à partir de 200µL de prélèvement type échantillons respiratoires.

Ce test a pour objectif d'être utilisé « au lit du patient ». En cas de signes cliniques évocateurs et de négativité du test, il est recommandé de faire un autre écouvillonnage naso-pharyngé qui sera testé par une technique moléculaire type RTqPCR de sensibilité supérieure avant de considérer la négativité du test.

Avec la recommandation mentionnée ci-dessus, 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.