

Evaluation de la performance analytique du test
BioFire®Respiratory Panel 2.1 *plus* pour le SARS-CoV-2
Sur FilmArray®Torch

30/07/2020

Nom du Kit : BioFire®Respiratory Panel 2.1 *plus*

Fournisseur : bioMérieux 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)

Correspondant :



Martina Hnatova, PhD

bioMérieux France | Marketing | Chef de Marché BioFire

5 rue des Aqueducs – BP 10 – 69 290 Craponne – France

martina.hnatova@biomerieux.com

Tel: +33 (0)4 78 87 73 62 | Mobile: +33 (0)6 14 10 09 56 | Fax: +33 (0)4 78 87 75 54

www.biomerieux.fr

I. 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 (PCR Pasteur).

L'évaluation a été conduite à partir de :

- dilutions de culture de virus SARS-CoV-2 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 n'a pas été évaluée. La sensibilité du kit par rapport aux autres virus respiratoires présents dans le panel n'a pas été évaluée.

II. Principe de la détection :

Le test RP2.1 *plus* est un test multiplex détectant 23 pathogènes : 19 virus dont le SARS-CoV-2 et 4 bactéries.

Il s'agit d'une PCR nichée multiplex, qui présente 2 cibles pour la détection du SARS-CoV-2 :

- Le gène de la protéine spike S
- Le gène de la protéine membranaire M

La durée du run est de 45 min.

III. Matériel et méthodes

Panel d'échantillons testés :

- Surnageants de culture sur cellules BGM infectées par SARS-CoV-2 (n=7) :
 - o Echantillon 2020/715 : récolte après 2 passages (P2)
 - o Dilutions successives afin de couvrir une large gamme de Ct et d'atteindre une limite de détection
- Dilutions d'un prélèvement positif pour le SARS-CoV-2 (n=8): 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 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)

Mise en œuvre :

Technique évaluée selon la notice du fournisseur

Ajout de 300 µl de prélèvement

IV. Résultats

Table 1 : Surnageants de culture sur cellules BGM infectées par SARS-CoV-2 2020/715 P2

	PCR Pasteur			BioFire® RP2.1 plus	
	Ct IP2	Ct IP4	Résultat	conclusion	Résultat
10-2	19,9	19,4	Positif	SARS-CoV-2	Positif
10-3	23,3	22,6	Positif	SARS-CoV-2	Positif
10-4	27,6	26,9	Positif	SARS-CoV-2	Positif
10-5	30,6	30,1	Positif	SARS-CoV-2	Positif
10-6	34,7	33,6	Positif	SARS-CoV-2	Positif
10-7	43,6	39,4	Positif limite	SARS-CoV-2	Positif
10-8	43,3	40,9	Positif limite	SARS-CoV-2	Positif

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

Dilutions	PCR Pasteur			BioFire® RP2.1 plus	
	Ct IP2	Ct IP4	Résultat	conclusion	Résultat
10-2	22,8	22,3	Positif	SARS-CoV-2	Positif
10-3	26,3	25,7	Positif	SARS-CoV-2	Positif
10-4	30,1	29,4	Positif	SARS-CoV-2	Positif
10-5	32,9	32,1	Positif	SARS-CoV-2	Positif
10-6A	40,6	35,4	Positif	SARS-CoV-2	Positif
10-7A	0	0	Négatif	None	Négatif
10-7B	NR	NR	NR	None	Négatif
10-7C	NR	NR	NR	SARS-CoV-2	Positif

NR : non réalisé

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

- pour les dilutions de virus SARS-CoV-2 (Table 1):
 - o 10^{-2} à 10^{-8} sur les deux cibles ; Les dilutions 10^{-7} et 10^{-8} sont positives en limite de détection
- pour les dilutions du prélèvement positif en matrice respiratoire (Table 2):
 - o les dilutions 10^{-2} à 10^{-6} sont détectées sur les deux cibles,
 - o la dilution 10^{-7} n'est pas détectée

Le test BioFire® RP2.1 *plus* (bioMérieux) détecte pour le SARS-CoV-2:

Pour les dilutions de virus (Table 1) :

- jusqu'à la dilution 10^{-8} (Ct de 19.4 à 40.9 en IP4)

Pour les dilutions du prélèvement positif en matrice respiratoire (Table 2):

- les dilutions 10^{-2} à 10^{-6} sont détectées (Ct de 22.3 à 35.4 en IP4)
- la dilution 10^{-7} est détectée une fois / trois

Le test BioFire® RP2.1 *plus* (bioMérieux) présente une sensibilité similaire à la technique de référence.

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.