

Résultats d'évaluation de la performance en 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

Nom du Kit : Xpert® Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* (Référence : 900-0966) test RUO

Fournisseur : Cepheid

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

Correspondants

Pierre Leroux

Senior Manager, Medical & Scientific Affairs

Cepheid

OBJECTIFS

L'objectif de l'évaluation est de tester la sensibilité analytique du test mentionné ci-dessus (Xpert® Xpress CoV-2/Flu/RSV plus RUO de Cepheid) utilisant le dispositif GeneXpert Dx, pour la détection du SARS-CoV-2 par comparaison de la technique maison de référence utilisée au CNR de Lyon, à partir d'échantillons respiratoires positifs ou négatifs pour le SARS-CoV-2.

MATERIELS ET METHODES

Panel d'échantillons testés

- Echantillon respiratoire dilué en EMEM afin d'apprécier la sensibilité analytique,
- Echantillons respiratoires (écouvillons naso-pharyngés) de patients positifs ou négatifs pour le SARS-CoV-2 (18 positifs en SARS-CoV-2 ; 3 négatifs en tout virus ; 6 échantillons positifs pour d'autres virus que le SARS-CoV-2, le VRS ou les virus influenza A et B ; un échantillon positif en VRS),
- Trois isolats de virus influenza dilués au 1/100^{ème} : A/Victoria/2570/2021 (H1N1) ; A/Stockholm/5/2021 (H3N2) ; B/Massachusetts/02/2012.

- Nous n'avons testé aucun échantillon visqueux.

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) avec un mix de deux sondes IP4 afin de détecter d'éventuels variants (cf https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2021/04/Modif_IP4_probe_Update_CNRVIR210406_VE.pdf)

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 :

La société Cepheid a développé un nouveau test moléculaire de détection du SARS-CoV-2 permettant également la détection des virus influenza A, virus influenza B et VRS. Le test a été évalué avec le dispositif GeneXpert Dx. La durée de la RTqPCR de 36 minutes.

- Le test est très simple à utiliser et inclut l'étape d'extraction des acides nucléiques.
- Le test permet la détection en multiplex du SARS-CoV-2 (cibles dans gènes N, E et RdRp), de virus influenza A (cibles dans gènes M, PB2, PA), de virus influenza B (cibles dans gènes M et NS), de virus respiratoire syncytial A et B (cibles dans gènes nucléocapside).
- Le test rend un résultat qualitatif sur la détection du **SARS-CoV-2**, Virus Influenza A (**FluA**), virus influenza B (**FluB**), virus respiratoire syncytial (**RSV**).
- Le test comporte un **témoin SPC** (*Sample Processing Control*).
- Les résultats des courbes de détection sont indiqués pour :
 - SARS-CoV-2
 - Flu A1
 - Flu A2
 - Flu B
 - RSV
 - SPC

Mise en œuvre :

Manipulation des échantillons sous PSM (L2).

Test réalisé à partir de **300 µL d'échantillon** introduit directement dans la cartouche de test.

Le test rend visible courbes d'amplification et Ct ainsi qu'une interprétation qualitative des résultats.

RESULTATS

Résultats sur les dilutions en EMEM d'un échantillon positif pour le SARS-CoV-2

Numéro ECHANTILLON	Test (Cepheid sur GeneXpert)							Technique de référence PCR Institut Pasteur; Extraction Emag; Amplification QS5			Type d'échantillon
	Résultat	Ct SARS-CoV-2	Ct FluA1	Ct FluA2	Ct Flu B	Ct RSV	Ct SPC	Résultat	Ct IP2	Ct IP4	
2021-0272 (10 ⁻¹)	Positif SARS-CoV-2	29,2	ND	ND	ND	ND	30,0	Positif	28,5	28,7	écouvillon naso-pharyngé dilué en EMEM (10-1)
2021-0272 (10 ⁻²)	Positif SARS-CoV-2	32,3	ND	ND	ND	ND	28,9	Positif	32,2	32,0	écouvillon naso-pharyngé dilué en EMEM (10-2)
2021-0272 (10 ⁻³) (A)	Positif SARS-CoV-2	35,5	ND	ND	ND	ND	28,8	Positif	35,0	34,4	écouvillon naso-pharyngé dilué en EMEM (10-3)
2021-0272 (10 ⁻³) (B)	Positif SARS-CoV-2	35,7	ND	ND	ND	ND	28,8	Positif	36,4	36,4	écouvillon naso-pharyngé dilué en EMEM (10-3)
2021-0272 (10 ⁻³) (C)	Positif SARS-CoV-2	36,6	ND	ND	ND	ND	29,6	Positif	36,1	36,6	écouvillon naso-pharyngé dilué en EMEM (10-3)
2021-0272 (10 ⁻⁴) (A)	Positif SARS-CoV-2	39,1	ND	ND	ND	ND	29,0	Positif limite	ND	38,4	écouvillon naso-pharyngé dilué en EMEM (10-4)
2021-0272 (10 ⁻⁴) (B)	Positif SARS-CoV-2	40,6	ND	ND	ND	ND	28,9	Négatif	ND	ND	écouvillon naso-pharyngé dilué en EMEM (10-4)
2021-0272 (10 ⁻⁴) (C)	Positif SARS-CoV-2	39,1	ND	ND	ND	ND	28,9	Négatif	ND	ND	écouvillon naso-pharyngé dilué en EMEM (10-4)

ND : Non détecté

Résultats sur échantillons respiratoires positifs en SARS-CoV-2

Numéro ECHANTILLON	Test (Cepheid sur GeneXpert)							Technique de référence PCR Institut Pasteur; Extraction Emag; Amplification QS5			Type d'échantillon
	Résultat	Ct SARS-CoV-2	Ct Flu A1	Ct Flu A2	Ct Flu B	Ct RSV	Ct SPC	Résultat	Ct IP2	Ct IP4	
2021-0463	Positif SARS-CoV-2	18,3	ND	ND	ND	ND	32,0	Positif	15,7	16,2	écouvillon naso-pharyngé
2021-0540	Positif SARS-CoV-2	17,1	ND	ND	ND	ND	33,0	Positif	18,2	18,0	écouvillon naso-pharyngé
2021-0099	Positif SARS-CoV-2	19,6	ND	ND	ND	ND	31,8	Positif	19,5	18,5	écouvillon naso-pharyngé
2021-0482	Positif SARS-CoV-2	22,3	ND	ND	ND	ND	30,0	Positif	20,7	21,3	écouvillon naso-pharyngé
2021-0365	Positif SARS-CoV-2	23,7	ND	ND	ND	ND	29,4	Positif	23,0	22,7	écouvillon naso-pharyngé
2021-0272	Positif SARS-CoV-2	26,0	ND	ND	ND	ND	28,0	Positif	24,9	24,1	écouvillon naso-pharyngé
2021-0145	Positif SARS-CoV-2	24,7	ND	ND	ND	ND	29,7	Positif	25,4	24,5	écouvillon naso-pharyngé
2021-0144	Positif SARS-CoV-2	27,3	ND	ND	ND	ND	28,8	Positif	25,4	24,6	écouvillon naso-pharyngé
2021-0578	Positif SARS-CoV-2	24,9	ND	ND	ND	ND	28,8	Positif	25,0	24,9	écouvillon naso-pharyngé
2021-0037	Positif SARS-CoV-2	27,3	ND	ND	ND	ND	29,4	Positif	27,0	26,1	écouvillon naso-pharyngé
2021-0419	Positif SARS-CoV-2	28,5	ND	ND	ND	ND	28,9	Positif	27,6	27,7	écouvillon naso-pharyngé
2021-0525	Positif SARS-CoV-2	27,8	ND	ND	ND	ND	30,2	Positif	28,1	28,2	écouvillon naso-pharyngé
2021-0080	Positif SARS-CoV-2	27,1	ND	ND	ND	ND	30,5	Positif	29,6	29,0	écouvillon naso-pharyngé
2021-0411	Positif SARS-CoV-2	31,0	ND	ND	ND	ND	28,3	Positif	31,1	31,1	écouvillon naso-pharyngé
2021-0364	Positif SARS-CoV-2	32,1	ND	ND	ND	ND	29,9	Positif	32,7	32,3	écouvillon naso-pharyngé
2021-0376	Positif SARS-CoV-2	33,5	ND	ND	ND	ND	28,7	Positif	36,1	34,3	écouvillon naso-pharyngé
2021-0480	Positif SARS-CoV-2	37,4	ND	ND	ND	ND	31,4	Positif	36,9	35,4	écouvillon naso-pharyngé
2021-0493	Positif SARS-CoV-2	37,6	ND	ND	ND	ND	28,4	Positif	35,2	36,9	écouvillon naso-pharyngé

Rmq : les Ct de la technique de référence IP2/IP4 correspondent à ceux obtenus initialement et n'ont pas été recontrôlés sur l'échantillon testé avec le test Cepheid après décongélation

Résultats sur échantillons négatifs en SARS-CoV-2 et éventuellement positifs pour d'autres virus respiratoires

Numéro ECHANTILLON	Test (Cepheid sur GeneXpert)							Techniques CNR détection virus respiratoires*	Type d'échantillon
	Résultat	Ct SARS-CoV-2	Ct Flu A1	Ct Flu A2	Ct Flu B	Ct RSV	Ct SPC	Résultat	
2021-0547	Négatif	ND	ND	ND	ND	ND	28,8	Négatif	écouvillon naso-pharyngé
2021-0581	Négatif	ND	ND	ND	ND	ND	28,7	Négatif	écouvillon naso-pharyngé
2021-0585	Négatif	ND	ND	ND	ND	ND	28,2	Négatif	écouvillon naso-pharyngé
2021-0579	Négatif	ND	ND	ND	ND	ND	29,2	HCOV (Ct 29,6)	écouvillon naso-pharyngé
2021-0587	Négatif	ND	ND	ND	ND	ND	30,5	HCOV (Ct 25,7)	écouvillon naso-pharyngé
2021-0588	Négatif	ND	ND	ND	ND	ND	29,8	PIV (Ct 25,2)	écouvillon naso-pharyngé
2021-0590	Négatif	ND	ND	ND	ND	ND	28,9	HMPV (Ct 32,5)	écouvillon naso-pharyngé
2021-0608	Négatif	ND	ND	ND	ND	ND	30,2	RHV (Ct 17,1)	écouvillon naso-pharyngé
2021-0609	Négatif	ND	ND	ND	ND	ND	29,3	RHV (Ct 18,8)	écouvillon naso-pharyngé
2021-0600	Positif RSV	ND	ND	ND	ND	32,9	28,4	VRS (Ct 33,7)	écouvillon naso-pharyngé
Isolat Influenza A(H1N1)	Positif Flu A	ND	16,0	17,9	ND	ND	30,9	Influenza A (Ct 14,9)	A/Victoria/2570/2019 (H1N1) (culture virus en cellules MDCK)
Isolat Influenza A(H3N2)	Positif Flu A	ND	13,5	17,2	ND	ND	33,2	Influenza A (Ct 17,5)	A/Stockholm/5/2021 (H3N2) (culture virus en cellules MDCK)
Isolat Influenza B	Positif Flu B	ND	ND	ND	15,2	ND	29,8	Influenza B (Ct 13,5)	B/Massachusetts/2/2012 (culture virus en cellules MDCK)

Les conditions d'utilisation sont celles mentionnées ci-dessus et suivent les recommandations du fournisseur.

Nous n'avons pas testé de prélèvements visqueux dans la présente évaluation.

Le test Xpert® Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* était valide avec une détection du contrôle SPC pour tous des échantillons testés.

Les résultats observés étaient cohérents avec ceux attendus :

- l'échantillon respiratoire dilué afin d'atteindre une limite de détection avec la technique de référence a été détecté dans tous les cas avec la technique évaluée, qui présente donc une sensibilité légèrement supérieure à la technique CNR,
- les échantillons positifs pour le SARS-CoV-2 ont tous bien été détectés positifs,
- les échantillons négatifs pour le SARS-CoV-2, par ailleurs négatifs ou positifs pour d'autres virus respiratoires étaient bien négatifs en SARS-CoV-2,
- l'échantillon positif en VRS et les dilutions d'isolats de virus influenza A et B ont été correctement détectés.

Concernant la détection du SARS-CoV-2, le test Xpert® Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* (Cepheid) a permis la détection du SARS-CoV-2 dans tous les échantillons testés. Ce test présente une sensibilité équivalente à légèrement supérieure à celle de la technique de référence CNR IPP (testée à Lyon).

Le test est facile d'utilisation et la RT-PCR dure 36 minutes (sans compter environ 5 minutes nécessaires à la préparation de l'échantillon) permettant un diagnostic rapide de l'échantillon testé.

CONCLUSIONS

En résumé, le test Xpert® Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* (Cepheid) est un test très simple à utiliser destiné à être utilisé en laboratoire directement à partir d'écouvillons naso-pharyngés pour des rendus de résultats en urgence ou dans le cadre de dépistage délocalisé.

Concernant la détection du SARS-CoV-2, le test Xpert® Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* (Cepheid) présente une sensibilité équivalente à légèrement supérieure à celle de la technique de référence CNR IPP (testée à Lyon).

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.