

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 *plus* (Référence : 900-0918) 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 *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

- Echantillons respiratoires (écouvillons naso-pharyngés) de patients positifs ou négatifs pour le SARS-CoV-2 (24 positifs en SARS-CoV-2 ; 4 négatifs en SARS-CoV-2) (conservés à -20°C depuis environ 1 mois),
- 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. Le test a été évalué avec le dispositif GeneXpert Dx. La durée de la RTqPCR de 30 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 de la nucléocapside N2, de l'enveloppe E et de l'ARN polymérase ARN dépendante RdRp),
- Le test rend un résultat qualitatif sur la détection du **SARS-CoV-2**
- Le test comporte un **témoin SPC** (*Sample Processing Control*).
- Les résultats des courbes de détection sont indiqués pour les gènes du SARS-CoV-2 détectés et pour le SPC :
 - E
 - N2
 - RdRp
 - 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 sur écouvillons naso-pharyngés positifs ou négatifs pour le SARS-CoV-2

Numéro ECHANTILLON	Test Xpress CoV-2 <i>plus</i> RUO (Cepheid) sur Genexpert					Technique de référence PCR Institut Pasteur; Extraction Emag; Amplification QS5			Remarques
	Résultat	Ct E	Ct N2	Ct RdRp	Ct SPC	Résultat	CT IP2	Ct IP4	
21-868/0055	SARS-CoV-2 POSITIVE	15,7	18,1	18,6	33,0	Positif	17,7	17,5	
21-869/0028	SARS-CoV-2 POSITIVE	20,0	22,3	22,8	30,1	Positif	21,8	21,9	
21-866/0084	SARS-CoV-2 POSITIVE	22,1	24,6	25,1	28,9	Positif	22,2	22,3	
21-864/0069	SARS-CoV-2 POSITIVE	22,4	24,7	25,8	29,8	Positif	22,4	22,7	
21-869/0010	SARS-CoV-2 POSITIVE	20,5	23,6	23,2	29,2	Positif	22,8	23,0	
21-864/0090	SARS-CoV-2 POSITIVE	23,3	25,4	26,3	29,5	Positif	24,2	24,4	
21-865/0008	SARS-CoV-2 POSITIVE	24,8	28,2	27,6	28,3	Positif	26,2	26,3	
21-866/0072	SARS-CoV-2 POSITIVE	25,2	28,5	28,1	28,6	Positif	26,7	27,1	
21-865/0097	SARS-CoV-2 POSITIVE	25,0	27,4	28,1	28,5	Positif	27,0	27,3	
21-866/0085	SARS-CoV-2 POSITIVE	26,5	29,4	29,3	28,5	Positif	27,9	28,4	Erreur 5007 au premier test
21-867/0007	SARS-CoV-2 POSITIVE	29,0	32,2	32,0	28,6	Positif	29,3	29,6	
21-865/0094	SARS-CoV-2 POSITIVE	27,5	31,3	30,4	28,4	Positif	30,8	31,1	
21-864/0086	SARS-CoV-2 POSITIVE	29,2	31,8	32,3	28,8	Positif	31,3	31,7	
21-865/0032	SARS-CoV-2 POSITIVE	25,4	28,5	28,6	28,9	Positif	30,4	31,8	
21-868/0083	SARS-CoV-2 POSITIVE	29,9	32,5	32,7	28,8	Positif	31,7	31,8	
21-867/0092	SARS-CoV-2 POSITIVE	30,6	33,1	33,8	28,9	Positif	31,8	31,9	
21-870/0068	SARS-CoV-2 POSITIVE	27,9	31,1	31,9	29,2	Positif	31,2	32,1	
21-865/0077	SARS-CoV-2 POSITIVE	29,9	32,9	32,8	28,6	Positif	31,8	32,1	
21-866/0093	SARS-CoV-2 POSITIVE	31,0	33,6	34,9	28,6	Positif	32,1	32,3	

21-866/0049	SARS-CoV-2 POSITIVE	31,0	33,4	34,2	29,2	Positif	33,4	34,0	
21-867/0083	SARS-CoV-2 POSITIVE	31,5	34,2	35,0	28,5	Positif	34,2	34,6	
21-868/0045	SARS-CoV-2 POSITIVE	34,0	36,6	37,5	28,4	Positif	35,5	36,1	
21-865/0009	SARS-CoV-2 POSITIVE	36,8	39,1	41,3	28,7	Positif	36,3	37,0	
21-865/0005	SARS-CoV-2 POSITIVE	34,7	37,8	37,5	29,3	Positif	34,7	37,9	Erreur 5007 au premier test
21-865/0034	SARS-CoV-2 NEGATIVE	0,0	0,0	0,0	28,1	Négatif	Négatif	Négatif	
21-865/0099	SARS-CoV-2 NEGATIVE	0,0	0,0	0,0	28,8	Négatif	Négatif	Négatif	
21-867/0044	SARS-CoV-2 NEGATIVE	0,0	0,0	0,0	29,1	Négatif	Négatif	Négatif	Erreur 5007 au premier test
21-870/0071	SARS-CoV-2 NEGATIVE	0,0	0,0	0,0	29,9	Négatif	Négatif	Négatif	
21-868/0021	Error	Error	Error	Error	Error	Positif	29,5	30,2	Erreur 5007 non retesté
21-865/0013	Error	Error	Error	Error	Error	Négatif	Négatif	Négatif	Erreur 2037

Erreur 5007 : Echec du contrôle de la sonde [QC1]

Erreur 2037 : Le test d'intégrité de la cartouche a échoué à la position de la valve 1390.

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.

Nous avons noté la présence du code erreur 5007 (échec du contrôle de la sonde) pour 4 échantillons testés (sur un total de 33 tests effectués) ; le test a pu être réalisé sur une nouvelle cartouche pour 3 échantillons (quantité insuffisante pour le 4^{ème}). Ce code erreur peut avoir trois origines : le module (optiques encrassés/non calibrés), la cartouche (défaut au niveau des fluorophores) ou l'échantillon (artefacts résiduelles, bulles ou échantillon opaque ou colorés). L'analyse des données n'a pas identifié de problème module ou cartouche compte tenu des sondes affectées. Le problème pourrait provenir de la congélation préalable des échantillons, cependant, le test était valide après repassage de l'échantillon sur une nouvelle cartouche. Pour un échantillon négatif, le test a présenté une erreur ponctuelle 2037 (problème d'intégrité de la cartouche).

Le test Xpert® Xpress CoV-2 *plus* était valide avec une détection du contrôle SPC pour tous les échantillons testés n'ayant pas présenté de code d'erreur.

Les résultats observés étaient cohérents avec ceux attendus :

- 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,

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

Le test est facile d'utilisation et la RT-PCR dure 30 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 *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, si l'on omet le problème des codes erreurs détectés qui va être exploré par Cepheid, le test Xpert® Xpress CoV-2 *plus* (Cepheid) présente une sensibilité équivalente 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.