

RAPPORT D'ÉVALUATION DE LA PERFORMANCE POUR LA DÉTECTION DES ANTICORPS ANTI SARS-CoV-2



Nom du Kit : *BIOZEK COVID-19 (IgG/IgM Rapid Test Cassette)*
Fournisseur : *Biozek medical*

Détection : IgM et IgG anti-SARS-CoV-2 dans sang total, sérum, plasma
Type de test : immunochromatographie lateral flow

I- Evaluation de la performance par comparaison avec les données de référence du CNR

Laboratoire Investigateur

Pr Sylvie van der Werf (sylvie.van-der-werf@pasteur.fr)

Dr Sylvie Behillil (sylvie.behillil@pasteur.fr)

Dr Vincent Enouf (vincent.enouf@pasteur.fr)

Centre National de Référence Virus des Infections Respiratoires (dont la grippe)
25-28, rue du Dr Roux
75 724 Paris cedex 15
+33 (0)1 45 68 87 25
grippe@pasteur.fr

OBJECTIFS

L'objectif de l'évaluation est de tester la **performance** du test mentionné ci-dessus, pour la détection des anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2 sur des sérums qualifiés par les techniques de référence utilisées au CNR de l'Institut Pasteur.

Les techniques de référence retenues pour la présente évaluation des performances du test *BIOZEK COVID-19 (IgG/IgM Rapid Test Cassette)* sont des tests de type ELISA détectant les immunoglobulines totales (Ig tot) ou les IgG contre l'antigène N du SARS-CoV-2.

LIMITES DE L'ÉVALUATION

- L'évaluation a été réalisée sur des sérums ou du plasma et ne préjuge pas des performances sur sang total.
- La sélectivité et notamment les réactions croisées avec les anticorps dirigés contre les autres coronavirus ne sont pas évaluées.
- La sensibilité analytique a été évaluée sur des dilutions séquentielles d'un nombre limité de plasmas.

INDICATIONS DU FOURNISSEUR

Détection : IgM et IgG anti-SARS-CoV-2 dans sang total, sérum, plasma

Type de test : immunochromatographie lateral flow

Volume utilisé : 10µl (sérum ou plasma) – 20µl (sang total)

Temps de lecture : 10 min (**ne pas interpréter après 20 minutes**)

Performance : informations du fournisseur, détails dans la fiche fournisseur

→ **Sensibilité et spécificité :** l'étude a été réalisée par comparaison avec le diagnostic clinique de COVID-19 confirmé par RT-PCR. Elle a porté sur un total de 70 échantillons pour les IgG et pour les IgM, dont 20 échantillons COVID-19 Positif et 50 COVID-19 Négatif.

Les résultats sont résumés dans le tableau I-1 ci-dessous.

Tableau I-1 : résumé des performances (données du fournisseur)

Anticorps	COVID-19+ (n)	COVID-19 neg (n)	Sensibilité %	CI95*	Spécificité %	CI95*	Précision %	CI95*
IgM	20	50	85,0 %	62,1%-96,8%	96,0%	86,3%-99,5%	92,9%	84,1%-97,6%
IgG	20	50	100%	86,1%~100%	98,0%	89,4%~99,9%	98,6%	92,3%~99,96%

* Intervalle de confiance

A noter qu'il n'y a pas d'information concernant la date après le début des symptômes pour les sérums de patients COVID-19+ inclus dans cette étude.

→ **Sélectivité (réactivité croisée)**

L'analyse de la sélectivité a montré une absence de réactivité croisée pour un large panel d'anticorps dirigés contre une variété de pathogènes viraux ou bactériens : virus influenza A, virus influenza B, RSV, Adenovirus, HBsAg, Syphilis, H. Pylori, HIV, HCV.

Aucune réactivité croisée n'a été observée. Cependant le nombre d'échantillon testés n'est pas précisé.

Aucune donnée n'est fournie pour les autres coronavirus (hCoV saisonniers, SARS-CoV-1, MERS-CoV)

→ **Interférence**

Différentes substances potentiellement interférentes ont été testées et aucune n'a montré d'interférence dans l'essai à la concentration évaluée (liste fournie dans la notice du fournisseur).

MATERIEL ET METHODES

Panel de sérums testés

- Sérums de patients COVID-19+ testés positifs en RT-PCR prélevés à différents temps après le début des symptômes (n=42)
- Sérums pré-pandémiques (n = 38)
- Dilutions de plasmas ou sérums (n=16)
- TOTAL : n=96

Techniques de référence du CNR pour la qualification des sérums

ELISA indirect, antigène N du SARS-CoV-2, détection des Ig totales LuLISA, antigène N du SARS-CoV-2, détection des IgG

Le seuil de positivité pour une dilution a été établi sur \approx 490 sérums pré-épidémiques
La sensibilité a été évaluée pour \approx 250 sérums de patient COVID-19+ (positifs en RT-PCR)
ELISA N Ig totales : spécificité 99%, sensibilité 78% ; spécificité 95%, sensibilité 81%
LuLISA N IgG : spécificité 99%, sensibilité 84% ; spécificité 95%, sensibilité 94%

ELISA indirect, antigène N du SARS-CoV-2, détection des IgM (pour une partie des sérums)

Test de pseudo-neutralisation à l'aide de pseudo-types lentiviraux porteurs de la protéine de spicule S du SARS-CoV-2

Technique du kit évalué selon la notice du fournisseur

Prise d'essai : 10 μ L de sérum
Temps de lecture : 10 min

RESULTATS

Mode d'emploi et utilisation

Mode d'emploi : conforme à l'utilisation

Lecture du test : aisée

Validation des contrôles : 100%

Comparaison des résultats

Les caractéristiques des 96 sérums retenus pour l'analyse sont indiquées dans le Tableau I-2.

Tableau I-2 : origine des sérums utilisés

	patients/sujets	nbre sérums	tot sérum
COVID19+	4	3	12
	6	2	12
	18	1	18
sous-total	28		42
Pré-pdm	38	1	38
plasmas dilutions	4	4	16
Total analyse	70		96

Pour les patients COVID-19+ les résultats en fonction de la date de début des symptômes. La concordance pour l'ensemble des sérums de patients COVID-19+ et pré-pandémiques est résumée dans le tableau I-3 pour les tests du CNR **Ig totales & IgG** et pour les **IgM+IgG** pour les résultats du kit.

Tableau I-3: Pourcentage de positivité et concordance entre résultats du kit (IgM+IgG) et les résultats du test de référence du CNR (Igtot/IgG)

Période après début des symptômes	Sérums	POS	POS	POS	POS	Concordance (%)						
		Igtot /IgG CNR	Igtot /IgG CNR	IgM +IgG Kit	IgM +IgG Kit	VP	FP	FN	VN	POS	NEG	TOT
jours	(n)	(n)	%	(n)	%							
0-5	1	1	100%	0	0%	0	0	1	0	0%	-	0%
6-10	3	3	100%	3	100%	3	0	0	0	100%	-	100%
11-15	7	7	100%	7	100%	7	0	0	0	100%	-	100%
16-20	8	8	100%	8	100%	8	0	0	0	100%	-	100%
>20	8	8	100%	8	100%	8	0	0	0	100%	-	100%
Sous-total	27	27	100%	26	96%	26	0	1	0	96%	-	96%
inconnu	15	15	100%	15	100%	15	0	0	0	100%	-	100%
Total COVID-19+	42	42	100%	41	98%	41	0	1	0	98%	-	98%
Pré-pdm	38	0	0%	1	3%	0	1	0	37	-	97%	97%
TOTAL	80	42	53%	41	53%	41	1	1	37	98%	97%	98%

VP, vrai positif ; FP, faux positif ; FN, faux négatif ; VN, vrai négatif.

Pour les **IgG + IgM**, la **sensibilité** évaluée sur les sérums de patients **COVID-19+** est de 98% (41/42).

La sensibilité est de 100% dès J6-10.

La concordance par rapport aux test NIgGtot/IgG du CNR est de 98% (41/42)

Un **faux négatif** concerne un sérum prélevé à J3 faiblement positif dans les tests N IgGtot et N IgG du CNR.

La **spécificité** sur les sérums pré-pandémiques est de 97% (37/38).

Le **faux positif** concerne un sérum faiblement positif pour les IgM avec le kit.

Pour les **IgG**, la **sensibilité** évaluée sur les sérums de patients **COVID-19+** est de 98% (41/42).

La concordance par rapport au test NIgG du CNR est de 95% (40/42)

Un **faux négatif** concerne le sérum prélevé à J3 faiblement positif dans le test N IgG du CNR.

Un **faux positif** a été observé pour un sérum dont la date de prélèvement après le début des symptômes n'est pas connue. Ce sérum négatif dans le test N IgG du CNR était faiblement positif proche du seuil de positivité dans le test N Igtot du CNR.

La **spécificité** sur les sérums pré-pandémiques est de 100% pour les IgG (38/38).

Pour les **IgM**, la **sensibilité** évaluée sur les sérums de patients COVID-19+ est de **26%**. Les résultats négatifs concernent des sérums à différents temps après le début des symptômes précoces comme tardifs. La **spécificité** sur les sérums pré-pandémiques est de 97% (37/38). Le **faux positif** concerne un sérum faiblement positif pour les IgM avec le kit.

Tableau I-4: Pourcentage de positivité et concordance entre résultats du kit (IgM) et les résultats du test ELISA IgM du CNR

Jours	Total	Total CNR IgM	POS CNR IgM	NEG CNR IgM	%POS CNR IgM	POS KIT IgM	NEG KIT IgM	%POS KIT IgM	VP	FP	FN	VN	Concordance (%)		
													POS IgM	NEG IgM	TOT IgM
0-5	1	1	1	0	100%	0	1	0%	0	0	1	0	0%	-	0%
6-10	3	1	1	0	33%	0	3	0%	0	0	1	0	0%	-	0%
11-15	7	4	4	0	57%	1	6	14%	1	0	3	0	25%	-	25%
16-20	8	3	3	0	38%	2	6	25%	2	0	1	0	67%	-	67%
>20	8	1	1	0	13%	2	6	25%	0	0	1	0	0%	-	0%
sous-total	27	10	10	0	37%	5	22	19%	3	0	7	0	30%	-	30%
inconnu	15	11	9	2	60%	6	9	40%	2	1	7	1	22%	50%	27%
Total	42	21	19	2	45%	11	31	26%	5	1	14	1	26%	50%	29%

La concordance a pu être analysée pour 21 sérums qualifiés pour la présence d'IgM dans un test ELISA N par le CNR.

La concordance chez les patients COVID-19+ est de 26% (5/19) pour les positifs, et de 29% (6/21) globalement.

Deux faux-négatifs correspondent aux sérums de patients COVID-19+ prélevés à différents temps après le début des symptômes (cf tableau I-4).

Un faux positif a été observé pour un sérum dont la date de prélèvement après le début des symptômes n'est pas connue positif en dans les tests N Igtot et N IgG mais négatif dans le test de pseudoNT.

L'analyse des sérums des patients COVID-19+ utilisés dans ce panel a montré que tous sont positifs avec le test pseudo-neutralisation (pseudo NT). La concordance des résultats IgG+IgM du kit pour les COVID-19+ avec le test de pseudoNT est de 98% (41/42) avec un faux négatif qui correspond au sérum prélevé à J3 faiblement positif dans les tests N IgGtot et N IgG du CNR.

Analyse de dilutions de plasma :

Dans une première approche de la sensibilité analytique, des dilutions de plasma ont été utilisées (cf Tableau I-5).

Tableau I-5: Comparaison de la sensibilité analytique sur des dilutions de plasmas

Plasma (#)	Dilution	IgGtot/IgG CNR	IgG+IgM Kit	IgM CNR	IgM Kit
453	1 :1	POS	POS	NEG	NEG
	1 :4	POS	POS	NEG	NEG
	1 :8	POS	POS	NEG	NEG
	1 :16	POS	POS faible	NEG	NEG
302	1 :1	POS	POS	NEG	NEG
	1 :4	POS	NEG	NEG	NEG
	1 :8	POS	NEG	NEG	NEG
	1 :16	NEG	NEG	NEG	NEG
401	1 :1	POS	POS	POS	POS
	1 :4	POS	POS faible	NEG	NEG
	1 :8	POS	POS	NEG	NEG
	1 :16	POS	POS	NEG	NEG
406	1 :1	POS	POS	NEG	NEG
	1 :4	POS	POS	NEG	NEG
	1 :8	POS	POS faible	NEG	NEG
	1 :16	POS faible	POS	NEG	NEG

La sensibilité du kit apparaît globalement inférieure à la technique de référence du CNR pour les IgG+IgM. Elle est comparable pour les IgM. A noter toutefois, le faible effectif des dilutions analysées.

II- Résumé de l'évaluation de la performance réalisée par d'autres laboratoires

Les éléments de deux autres études internationales sont résumés dans le Tableau II-1.

Tableau II-1: récapitulatif des données d'autres études

	Etude	Sérums/plasmas COVID-19+ (n)	Sensibilité (%)	Sérums/plasmas NEG (n)	Spécificité (%)	Remarques
Kit IgM	1	37	54,1%*	20	90%	pas de données accessibles sur la sélectivité (réactions croisées) ni les interférences avec des substances connues susceptibles d'interférence
	2	45	82,2%**	365	96,6%	pas de données accessibles sur la sélectivité (réactions croisées) ni les interférences avec des substances connues susceptibles d'interférence
Kit IgG	1	37	97,2%*	20	100%	pas de données accessibles sur la sélectivité (réactions croisées) ni les interférences avec des substances connues susceptibles d'interférence
	2	45	82,2%**	365	98,1%	pas de données accessibles sur la sélectivité (réactions croisées) ni les interférences avec des substances connues susceptibles d'interférence

* : sérums prélevés > 15 jours après le début des symptômes

** : sérums prélevés > 10 jours après le début des symptômes ; sensibilité globale IgG+IgM

Conclusion Globale

Au total, l'évaluation des performances du test *BIOZEK COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Cassette* sur du **sérum ou du plasma** indique que :

La **spécificité** est **bonne voire très bonne** pour les IgG (98%-100%) mais moins bonne pour les IgM (90%-97%) en accord avec les données du fournisseur.

En termes de sélectivité, il n'y a pas de données autres que celles indiquées par le fournisseur et notamment aucune donnée disponible pour les coronavirus saisonniers.

La **sensibilité globale** pour la détection des IgG/IgM chez les sujets COVID-19+ est de 98% dans l'étude du CNR et de 82% dans une autre étude. Elle augmente avec le délai après le début des symptômes et atteint 100% au-delà de 10 jours (étude du CNR).

La sensibilité pour les **IgG** est de 98% dans l'étude du CNR et de 97% dans une autre étude pour des sérums prélevés à plus de 15 jours après le début des symptômes, et conforme aux données du fournisseur.

La sensibilité pour les **IgM** (26% dans l'étude du CNR ; 54% dans une autre étude) est nettement inférieure à celle des IgG et inférieure aux performances annoncées par le fournisseur.

Au total le test *BIOZEK COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Cassette* présente une **sensibilité et une spécificité acceptables** uniquement pour les IgG pour la détection des anticorps anti-SARS-CoV-2 chez les patients COVID-19+ confirmés par RT-PCR au-delà de 15 jours après le début des symptômes.

S'agissant d'un test qualitatif, le test *BIOZEK COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Cassette* ne fournit pas d'indication sur le niveau des anticorps détectés et par conséquent sur le niveau de l'immunité. Il faut de plus souligner que dans l'état actuel des connaissances, il n'existe pas de données concernant les corrélats de protection.

Fait à Paris, le 3 mai 2020



Pr Sylvie van der Werf
Responsable
CNR virus des infections respiratoires
Institut Pasteur
Paris, France