

Sérologie SARS-CoV-2 : évaluation, qualification et choix d'une méthode



Catherine COIGNARD, Anne EBEL, Yanis BOUAMRA, Didier RIDEY, Carla MARCENARO
Biomnis Laboratoire Eurofins Biomnis, 78 avenue de Verdun 94200 IVRY-SUR-SEINE

Objectif - Introduction

La liste des réactifs autorisés par le CNR pour la sérologie SARS-CoV-2 n'a été révélée que quelques jours avant la parution de la NABM en date du 28/05/2020. Il a donc été impératif au

cours des deux mois précédents de faire sans attendre l'évaluation et la qualification des kits alors disponibles dans le but d'une mise en route rapide dans le respect des exigences de l'HAS.

Matériels et méthodes

Sérum

122 échantillons répartis en 6 groupes :

- Groupe 1 :** 8 échantillons de 4 patients confirmés RT-PCR+ prélevés à des temps différents entre mars et avril 2020.
- Groupe 2 :** 7 échantillons datant du dernier trimestre 2019, présentant de sérologies fortement positives en IgG et IgM pour EBV ou Parvovirus B19 ou Mycoplasma pneumoniae.
- Groupe 3 :** 4 échantillons prélevés en février 2019 en dehors de toute circulation du SARS-CoV-2.
- Groupe 4 :** 12 échantillons de 8 patients présentant des symptômes évocateurs de la COVID-19 prélevés à des temps différents entre mars et avril 2020.
- Groupe 5 :** 6 échantillons de sujets n'évoquant aucun symptôme.
- Groupe 6 :** 85 échantillons issus de la routine dans le cadre de demande de sérologie Coronavirus

Kits

6 kits diagnostic ont été testés (avril-mai 2020)

Nom du kit	Fabricant	Isotype recherché	Cible antigénique	Technique technique	Automate/plate-forme ELISA
NovaLisa® SARS-CoV-2	NovaTec Immunodiagnostica GmbH	IgG	protéine N	ELISA	QUANTA-Lyser® 240 (Werfen)
		IgM	protéine N		
		IgA	protéine N		
INgezim® COVID 19 DR	Eurofins Ingenasa	Ig totales	protéine N		
Elecsys SARS-CoV-2	Roche Diagnostics	Ig totales	protéine N	CLIA	Cobas® 8000
LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2	DiaSorin	IgG	sous-unités S1 et S2	CLIA	LIAISON®XL



Résultats

- Aucune détection d'anticorps anti-SARS-CoV-2 n'a été constatée sur les sérums antérieurs à la circulation du virus (**groupe 3**).
- Aucune détection d'anticorps anti-SARS-CoV-2 n'a été constatée sur les sérums de sujets n'évoquant aucun symptôme de la COVID-19 (**groupe 5**).

Spécificité	IgG			LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2	Elecsys SARS-CoV-2	INgezim® COVID 19 DR
	IgG	IgM	IgA	IgG	Ig totales	Ig totales
	100%	100%	100%	60%	100%	100%

Tableau 1 : spécificité (groupe 1, 2, 3, 5)

Seul le kit DiaSorin a montré l'existence de réaction croisée dans notre évaluation avec Parvovirus B19 et *Mycoplasma pneumoniae* (sérum d'octobre 2019).

Groupe 1 Sujets RT-PCR +	N° échantillons	JAS*	NovaLisa® SARS-CoV-2			LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2	Elecsys SARS-CoV-2 cobas® Roche	INgezim® COVID 19 DR
			IgG	IgM	IgA	IgG	Ig totales	Ig totales
Patient A	A2	J17	positif	négatif	positif	positif	positif	positif
	A12	J25	positif	négatif	positif	positif	positif	positif
	A47	J63	positif	négatif	négatif	positif	positif	positif
Patient B	B5	J-3 avant PCR	négatif	négatif	positif	négatif	négatif	négatif
Patient C	C6	J17	positif	négatif	négatif	douteux	positif	positif
	C17	J31	positif	négatif	négatif	positif	positif	positif
Patient D	D7	J17	positif	négatif	négatif	négatif	positif	positif
	D45	J62	positif	négatif	négatif	positif	positif	positif

Tableau 2 : résultats patients du groupe 1/ séquences de prélèvements/technique

Pour les patients du groupe 1 prélevés au-delà de J15, la sensibilité est de 100% pour les tests Roche et INgezim (détection des Ig totales), ainsi que pour la recherche des IgG du kit NovaTec. La sensibilité du kit DiaSorin a été évaluée à 83 %.

Pas de détection des IgM sur les sérums testés ; détection inconstante des IgG dans ce groupe.

*JAS : jour après apparition des symptômes

Groupe 4 Symptômes évocateurs	N° échantillons	JAS*	NovaLisa® SARS-CoV-2			LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2	Elecsys SARS-CoV-2 cobas® Roche	INgezim® COVID 19 DR
			IgG	IgM	IgA	IgG	Ig totales	Ig totales
Patient E	E1	J15	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif	douteux
	E9	J22	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif	douteux
	E41	J39	positif	-	-	négatif	positif	positif
Patient F	F3	J19	négatif	négatif	positif	négatif	positif	positif
	F10	J27	positif	négatif	négatif	positif	positif	positif
Patient G	G4	J18	négatif	négatif	négatif	positif	positif	positif
	G11	J26	positif	négatif	douteux	positif	positif	positif
Patient H	H8	?	positif	positif	positif	positif	positif	positif
Patient I	I13	?	positif	positif	positif	positif	positif	positif
Patient J	J14	?	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif
Patient K	K15	J13	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif
	K16	J20	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif	négatif

Tableau 3 : résultats patients du groupe 4/ séquences de prélèvements/technique

Pour les sujets du groupe 4 (suspects d'infection COVID-19), la sensibilité a été retrouvée supérieure pour les kits détectant les Ig totales (75 % pour Roche et 77 % pour INgezim®) à la détection simultanée des IgG, IgA, IgM (65 %, NovaTec) ou à la détection des IgG seules (56 % DiaSorin).

Nombre d'échantillons N=85

	Elecsys SARS-CoV2		
	négatif	positif	total
INgezim COVID 19	négatif	42	42
	douteux	4	4
	positif	1	38
	total	43	42

La dernière partie de cette évaluation a été de comparer les deux techniques ayant présenté les meilleurs résultats et une concordance de 100 % pour les groupes 1, 2, 3 et 5.

Tableau 4 : comparaison des techniques de détection des Ig totales Roche et INgezim® (groupe 6, 85 sérums issus de la routine)

La concordance négative et positive des deux techniques est respectivement de 97.7 % et de 100% (en excluant les douteux).

Bibliographie

HAS 16/04/2020 : Cahier des charges définissant les modalités d'évaluation des performances des tests sérologiques détectant les anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2. <https://covid-19.sante.gouv.fr>: liste des tests autorisés par le CNR

Conclusion

Cette évaluation nous a conduit à privilégier la technique de détection des Ig totales Elecsys SARS-CoV-2 cobas® Roche en raison de notre forte activité (1000 échantillons /jour). Cette technique, ainsi que le kit IgG NovaLisa ont été validés par le CNR (sensibilité et spécificité respectivement supérieure à 90 et 98%) : ces

deux alternatives ont donc pu être mises en route immédiatement au laboratoire, en répondant d'une part aux critères de de qualité et exigence établis par l'HAS et d'autre part à l'obligation faite par le COFRAC de réaliser une vérification de méthode avant la mise en route