

Bruxelles, 20/04/2020

Données concernant la validation du test Lab on Time 2019-nCoV IgG/IgM rapid test cassette by BMT Biomarketing, Ltd.

¹Prof Dr Béatrice Gulbis ¹Prof Dr Maria Isabel Montesinos Hernandez, ¹Dr Sigi Van Den Wijngaert,
¹Prof Dr Olivier Vandenberg

¹Service de Microbiologie, LHUB-ULB, Université Libre de Bruxelles

²Prof Pharm Damien Gruson, ³Prof Dr Hector Rodriguez, ³Prof Pharm Benoit Kabamba, ³Pharm Reza Soleimani, ²Dr Mehdi Khourssa.

²Service de Chimie Médicale, ³Service de Microbiologie.

Département des laboratoires Cliniques. Cliniques Universitaires Saint Luc-UCL

Introduction

Le diagnostic de l'infection par SARS-CoV-2 est un élément essentiel pour le contrôle de l'épidémie, l'instauration de mesures de protection et la prise en charge thérapeutique des patients. Même si la RT-qPCR est considérée comme la méthode de référence, la sensibilité de cette méthode peut varier en fonction de la qualité du prélèvement, du moment de l'infection et de la charge virale. Dans ce contexte, les tests sérologiques avec la détection des anticorps de type IgM ou IgA et IgG peuvent jouer un rôle complémentaire à la PCR et aider dans la réponse à plusieurs questions telles que le dé-confinement des patients en fonction de leur degré d'immunité, la discordance des résultats entre le CT scanner et la PCR, l'évaluation de l'immunité individuelle et collective et la réalisation des analyses épidémiologiques à large échelle et sur le personnel soignant.

Néanmoins les données concernant les différents tests sérologiques ne sont pas encore abondantes et beaucoup de controverses existent sur la pertinence et les performances des tests rapides. Le but de cette étude est d'évaluer la performance du test rapide 2019-nCoV IgG/IgM (test pour la détection simultanée des IgM et IgG anti-SARS-CoV-2 développé par BMT Biomarketing, Israel).

Une analyse comparative va aussi faire l'objet de la validation afin d'analyser la performance du test par rapport à un test ELISA quantitatif (Euroimmun IgA/IgG, Germany).

Matériel et méthodes

Cette évaluation a été réalisée conjointement aux laboratoires de deux institutions universitaires, le LHUB-ULB (ULB) et les Cliniques Universitaires Saint Luc (UCLouvain). Les tests ont été réalisés conformément aux recommandations des fabricants.

Évaluation de la Spécificité

La spécificité a été évaluée avec 79 fractions résiduelles de plasma ou sérum de sujets COVID-19 négatifs parmi lesquels nous avons inclus: a) 39 sans facteurs confondants connus (échantillons congelés à -80°C avant le début de la pandémie, entre janvier 2018 et août 2019) analysés afin de détecter une réactivité croisée potentielle avec d'autres virus de la famille *Coronaviridae* ; b) 30 fractions résiduelles de plasma ou sérum de sujets COVID-19 négatifs mais avec d'autres pathologies pouvant être considérées comme facteurs confondants y compris de séra positifs pour virus de Epstein Barr (n=5), *Mycoplasma pneumoniae* (n=8), CMV (n=11), Parvovirus, VHB, *Bartonella henselae*, *Brucella* et pour des pathologies auto-immunes (anticorps anti DNA, anti PL12, anti Scl-70) ; c) 10 sérum des sujets sains asymptomatiques, prélevés le 03/04/2020 (période épidémique).

Évaluation de la Sensibilité

La sensibilité a été évaluée avec 200 fractions résiduelles de plasma ou sérum de sujets COVID-19 positifs confirmés par PCR (100% de patients) et CT scanner afin de détecter une réactivité IgM/IgG. Ces échantillons ont été choisis parmi différents services hospitaliers indépendamment de l'état clinique des patients mais ayant parfois une date de prélèvement différents par rapport à la date du diagnostic par la PCR.

Corrélation avec une autre méthode

Une comparaison a été réalisée avec la méthode EUROIMMUN ELISA (détection des IgA et IgG) sur 200 fractions résiduelles de plasma ou sérum de sujets positifs et négatifs COVID-19 des sous-groupes précédemment décrits.

Résultats

En général les résultats pour le test Lab on Time sont facilement interprétables avec des bandes de lecture univoques mais certains échantillons avec des taux d'anticorps faibles peuvent présenter une légère difficulté pour la lecture (en particulier pour les IgM). Le résultat est obtenu en 10 minutes. Tous les tests réalisés ont permis une interprétation (figure 1) avec une bonne corrélation entre l'intensité de la bande et le taux d'anticorps.

Les résultats obtenus avec les kits Lab on time et Euroimmun sont résumés respectivement dans les tableaux 1 et 2.

Parmi les 79 patients non infecté par le SARS-COV-2 (groupes a, b et c), la moyenne de ratio obtenue par le test anti-SARS-COV-2 pour les IgA et IgG (Euroimmun) était respectivement de 0.626 (0.05-3.55) et de 0.317 (0.16-1.15). Les résultats ont montré un signal faussement positif pour 10 échantillons des patients non infectés par SARS-Cov-2 dont 6 étaient des séra contenant des facteurs d'interférence connus (groupe c).

Le test Lab on Time n'a pas montré de signal faussement positif chez les patients non-SARS-Cov-2 (groupe a, b et c) avec une excellente spécificité de 100% (CF Tableau 1).

Parmi les patients infectés par le SARS-Cov-2, Les résultats ont démontré une meilleure sensibilité du kit Euroimmun liée à la détection des IgA mais associée à une perte de spécificité (tableau 1 et 2), par contre la sensibilité de la détection des IgG est légèrement supérieure pour le test Lab on Time sans différences significatives.

Figure 1 : exemple de la visualisation des résultats avec le test Lab on Time 2019-nCoV IgG/IgM.

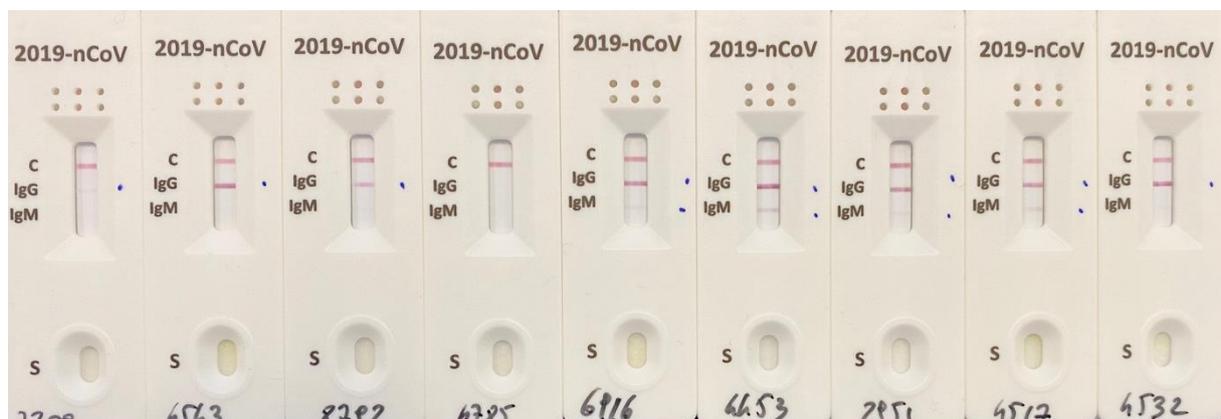


Tableau 1 : Résumé des résultats obtenus avec le test Lab on Time 2019-nCoV IgG/IgM

Lab on Time	Test des sera des patients SARS- CoV-2	Test des Sera des Contrôles négatifs	Sensibilité (IC 95%)	Spécificité (IC 95%)	VPP (IC 95%)	VPN (IC 95%)
IgM	62/128	72/72	48,4% (40-57)	100,0% (94,9-100)	100,0% (94,2-100)	52,2% (43,9- 60,3)
IgG	86/128	72/72	67,2% (58,7- 74,7)	100,0% (94,9-100)	100,0% (95,7-100)	63,2% (54-71,4)
IgM et/où IgG	92/128	72/72	71,9% (63,5- 78,9)	100,0% (94,9-100)	100,0% (96-100)	66,7% (57,3-4,8)

Tableau 2 : Résumé des résultats obtenus avec le test Euroimmun

Euroimmun	Test des sera des patients SARS-CoV- 2	Test des Sera des Contrôles négatifs	Sensibilité (IC 95%)	Spécificité (IC 95%)	VPP (IC 95%)	VPN (IC 95%)
ELISA						
Euroimmun IgA	107/128	62/72	83,6 (76,2- 89,0)	86,1% (76,3-92,3)	91,5% (85,0-95,3)	74,7% (64,4- 82,8)
Euroimmun IgG	79/128	71/72	61,7 (53,1-69,7)	98,6 (92,5-99,8)	98,8 (93,3-99,8)	59,2 (50,2-67,5)
Euroimmun (IgA or IgG)	108/128	63/72	84,4% (77,1-89,7)	87,5% (77,9%93,3)	92,3% (86,0-95,9)	75,9% (65,7-83,8)

Par rapport à la date de début de la symptomatologie, le tableau 3 montre que les deux tests sont équivalents à partir de la deuxième semaine de symptômes sans différences statistiquement significatives.

Tableau 3 : Résultats comparatifs de la sensibilité des tests en fonction de la date du début de la symptomatologie

	Nombre de jours depuis le début des symptômes		
	0 to7 jours N (%)	8 to 14 jours N (%)	15 ou plus N (%)
Euroimmun			
IgA or IgG	19/29 (65,5)	55/62 (88,7)	31/33 (93,93)
IgA	19/29 (65,5)	54/62 (87,09)	31/33 (93,93)
IgG	5/29 (17,2)	41/62 (66,12)	30/33 (90,9)
Lab on time			
IgM et/ou IgA	11/29 (37,9)	47/62 (75,8)	31/33 (93,93)
IgM	5/29 (17,2)	31/62 (50)	23/33 (69,7)
IgG	9/29 (31%)	43/62 (69,35)	31/33 (93,93)

Points d'amélioration objectifs :

Bien que le test cassette **Lab on Time** présente des performances analytiques compatibles avec une utilisation en routine, l'amélioration des points suivants permettrait d'en faire un outil plus convivial :

1. Ajout d'un kit de désinfection (positionnement en POCT)
2. Renforcement de la ligne IgM (faible entraînant difficulté de lecture)

Conclusions:

Le test cassette **Lab on Time 2019-nCOV IgG/IgM** label CE 146198500 a été validé au sein de deux laboratoires universitaires (LHUB et Cliniques Universitaires Saint Luc). Les résultats ont montré que le test Lab on time est un test pratique, facile et rapide à réaliser avec une interprétation univoque. Les performances analytiques pour les dosages des IgM & IgG plasmatiques (Euroimmun) et le test rapide sérique sont compatibles avec une utilisation clinique pour le diagnostic de l'infection par le SARS-COV-2 ainsi que pour la détermination de l'immunité. Le test a montré une excellente spécificité ainsi que sensibilité à partir de la deuxième semaine du début de la symptomatologie.