

SYNTHESE

Cahier des charges définissant les modalités d'évaluation des performances des tests sérologiques détectant les anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2

Validée par le Collège le 16 avril 2020

L'essentiel

- La seule technique de diagnostic biologique du COVID-19 recommandée à ce jour est le test moléculaire par RT-PCR permettant la détection du génome du coronavirus SARS-CoV-2.
- Les tests sérologiques ne sont pas recommandés dans le cadre du diagnostic précoce de l'infection COVID-19 lors de la première semaine suivant l'apparition des symptômes.
- Les tests sérologiques ne permettent pas de statuer sur la contagiosité de la personne.
- Les tests sérologiques permettent uniquement de déterminer si une personne a produit des anticorps en réponse à une infection par le virus SARS-CoV-2.
- La cinétique de production des anticorps contre le virus est encore aujourd'hui mal caractérisée principalement chez les patients asymptomatiques. La durée de protection éventuelle est également mal connue.
- Il est primordial que les tests sérologiques puissent être validés sur leurs premières performances analytiques et cliniques dès aujourd'hui avant leur achat et leur utilisation en routine.
- C'est pourquoi, la HAS propose le présent cahier des charges qui détaille des critères de qualité et d'exigence vis-à-vis de l'ensemble des tests sérologiques détectant les anticorps spécifiques dirigés contre le SARS-CoV-2 afin de faciliter leur développement et leur évaluation.
- La HAS considère que les valeurs seuils minimales sont estimées à 98 % pour la spécificité clinique et à 90 % ou 95 % selon l'usage du test pour la sensibilité clinique.
- La HAS recommande de disposer des résultats des évaluations de performances menées sur la base des éléments du présent cahier des charges préalablement à tout achat et utilisation de tests sérologiques.
- La stratégie d'utilisation de ces tests sera précisée dans un prochain avis.

Contexte

Le 31 décembre 2019, l'OMS a été alertée de l'apparition de plusieurs cas de pneumonie d'origine inconnue dans la ville de Wuhan (Chine). Le pathogène à l'origine de ces pneumonies a été identifié : il s'agit d'un nouveau coronavirus baptisé SARS-CoV-2, la maladie associée étant désignée par le terme COVID-19.

Plusieurs options de tests diagnostiques du COVID-19 sont disponibles, il s'agit :

- de **tests antigéniques** qui permettent la détection de protéines spécifiques du SARS-CoV-2. Ces tests peuvent être réalisés sur des prélèvements nasopharyngés, des prélèvements des voies respiratoires basses. Comme les tests de RT-PCR, ces tests permettent le diagnostic précoce de la maladie dès la phase aiguë. **Toutefois, compte tenu de leurs faibles performances notamment en cas de charge virale basse, ces tests antigéniques ne sont à ce jour pas recommandés en usage clinique dans le cadre du COVID-19**, comme l'a souligné l'Organisation mondiale de la santé (OMS) dans sa position du 08 avril 2020 ;
- de **tests sérologiques** qui permettent la détection des anticorps (Ac) spécifiques (immunoglobulines : Ig) produits par l'organisme et dirigés contre le SARS-CoV-2. Ces tests sont réalisés sur des prélèvements sanguins et pourraient avoir une utilité pour identifier les patients ayant développé une immunité vis-à-vis du SARS-CoV-2 qu'ils aient été symptomatiques ou pas. Par corolaire, les tests sérologiques pourraient identifier dans certaines circonstances les patients étant ou ayant été infectés par le SARS-CoV-2, connaître le statut sérologique de personnes exposées (professionnels de santé par exemple). Enfin, ces tests pourraient également avoir une utilité dans le recueil des données épidémiologiques liées au COVID-19 (patients réellement infectés, taux de mortalité...). Toutefois, la pertinence du recours à ces tests en pratique clinique dépend de la disponibilité préalable de connaissances physiopathologiques, techniques et cliniques permettant leur évaluation et leur validation ;
- du **test moléculaire de détection du génome du coronavirus SARS-CoV-2 par RT-PCR qui est à ce jour la seule technique de diagnostic biologique du COVID-19 recommandée**. Cette technique de RT-PCR permet un diagnostic **lors de la phase aiguë** du COVID-19. Elle est réalisée sur des prélèvements nasopharyngés profonds par écouvillonnage ou des prélèvements des voies respiratoires basses. **Cet acte est remboursé depuis le 07 mars 2020** en fonction de critères définis par la HAS dans son avis du 06 mars 2020 et dans les indications définies et actualisées par les autorités sanitaires. Des tests RT-PCR sur prélèvements salivaires ont également été décrits mais leurs performances n'ont pas été suffisamment évaluées à ce jour pour être recommandés.

Premières données physiopathologiques sur la production d'anticorps anti-SARS-CoV-2

Peu de données sont aujourd'hui disponibles sur la réponse immunitaire dirigée contre le SARS-Cov-2. Toutefois, sur la base des quelques études publiées jusqu'au 14 avril 2020 et de la position des Centres nationaux de référence (CNR) des « virus des infections respiratoires (dont la grippe) », nous disposons de faisceaux concordants d'observations sur plusieurs aspects de la réponse immunitaire adaptative humorale, et plus particulièrement sur la cinétique de production d'anticorps anti-SARS-CoV-2.

Ainsi, la production d'Ac d'isotype IgM débiterait à partir du cinquième jour suivant l'apparition des symptômes, deviendrait détectable chez certains patients à partir du 7^{ème} jour et chez la totalité des patients au cours de la deuxième semaine après apparition des symptômes. La production des IgG

survient légèrement en décalé par rapport à celle des IgM mais peut également être fréquemment quasi-concomitante à cette dernière. **La production d'IgM et/ou d'IgG est donc détectable chez les patients symptomatiques à partir de la deuxième semaine suivant l'apparition des symptômes.** Les taux d'anticorps semblent plus élevés pour les cas les plus sévères. Notons qu'une production d'IgA anti-SARS-CoV-2 a également été décrite. Néanmoins, il a également été rapporté des cas avec des productions d'anticorps plus tardives, au-delà du 15^{ème} jour après l'apparition des symptômes, et jusqu'à 30 jours après infection notamment chez des patients asymptomatiques ou paucisymptomatiques. Ces dernières observations restent néanmoins à confirmer. **La cinétique de production d'IgM et/ou d'IgG est encore aujourd'hui principalement mal caractérisée chez les patients asymptomatiques ou paucisymptomatiques.**

Ainsi, comme attendu, la réponse immunitaire adaptative humorale dirigée contre le virus SARS-CoV-2 n'est pas une réponse immédiate à l'infection mais au contraire retardée. **Les tests sérologiques ne sont donc pas recommandés dans le cadre du diagnostic précoce de l'infection COVID-19 lors de la première semaine suivant l'apparition des symptômes**, en accord avec la position du 08 avril 2020 de l'OMS.

Autre information issue de ces premières études : la durée longue de la production d'IgM détectable en fin d'infection. En effet, la production d'IgM reste détectable pour une grande majorité de patients (80 à 97 % selon les études) et ce jusqu'à 7 semaines après l'apparition des symptômes. Par conséquent, sur une fenêtre comprise entre 7 jours et 7 semaines après apparition des symptômes, le profil isotypique est donc très majoritairement IgM+ IgG+, sans pouvoir discriminer entre les patients en cours d'infection et ceux en fin d'infection. Ceci a également été confirmé par le CNR (site de Lyon) soulignant qu'à ce jour, ce dernier n'avait pas observé de décroissance de production d'anticorps à deux mois après survenue des symptômes (durée de suivi maximale actuellement disponible pour le CNR). La cinétique d'apparition du profil anticorps IgM- IgG+ (qui permet en principe d'identifier des patients avec une infection ancienne) n'est donc pas encore connue aujourd'hui.

Les tests sérologiques ne permettent pas de statuer si la personne est contagieuse ou pas. En effet, la séroconversion ne s'accompagne pas d'une baisse de la charge virale. Il n'y a pas de corrélation établie entre production d'anticorps et présence du virus infectieux. De plus, ni la dose infectante du SARS-CoV-2, ni la dose initiant une réponse anticorps ne sont aujourd'hui connue. Ceci pose notamment la question de l'association de tests sérologiques et RT-PCR. **Les tests sérologiques permettent uniquement de déterminer si une personne a produit des anticorps en réponse à une infection par le virus, en d'autres termes, si cette personne a déclenché ou non une réponse immunitaire contre le virus.** Mais réponse immunitaire n'est pas systématiquement synonyme d'immunisation protectrice contre une nouvelle infection par ce même virus. Pour que l'immunisation soit protectrice, il faut notamment que l'organisme produise des titres importants d'anticorps empêchant l'action du virus (et notamment son entrée dans les cellules cibles). On parle alors d'anticorps neutralisants. De plus, il faut que ces titres importants d'anticorps neutralisants soient produits sur une longue période afin de pouvoir garantir une protection durable. Or, à ce jour, les épitopes cibles des anticorps neutralisants n'ont pas encore été répertoriés. De plus, comme récemment souligné par l'OMS, il n'existe pas de preuve démontrant une immunité protectrice contre le COVID-19 induite par des anticorps produits contre le SARS-CoV-2. Le titre d'anticorps neutralisant nécessaire pour assurer une protection ainsi que la durée de production d'anticorps neutralisants sont inconnus. Le Conseil scientifique a néanmoins considéré qu'en l'état des connaissances scientifiques et compte tenu de l'insuffisance de la documentation disponible à ce jour de réinfection par le virus SARS-CoV-2 et de travaux en cours sur l'utilisation thérapeutique de sérums issus de patients guéris, la présence d'anticorps anti-SARS-CoV-2 signifie à ce stade une protection immunitaire développée après guérison d'une infection symptomatique ou asymptomatique/paucisymptomatique.

Concernant les cibles virales utilisées dans les tests sérologiques pour détecter les IgM/IgG, deux protéines sont fréquemment utilisées : la protéine S (spike), protéine de surface du virus permettant l'interaction (*via* son domaine RBD) et la fusion avec la cellule cible et la protéine N (protéine de la nucléocapside, interne au virus). Si la protéine S (ou son domaine RBD) a été décrite comme induisant une réponse IgM plus précoce ou mieux corrélée avec la présence d'anticorps neutralisants, les épitopes précis neutralisants n'ont pas encore été caractérisés. Ces épitopes pourront également dépendre de la conformation de la protéine, notamment en ce qui concerne la protéine S. **Il n'y a donc pas, à ce jour, d'élément robuste pour favoriser l'utilisation d'une forme précise de ces protéines.**

Détection d'anticorps anti-SARS-CoV-2 par tests sérologiques

La sérologie permet la mesure qualitative ou semi-quantitative (titration) de la production d'anticorps produits par l'organisme contre le virus. La sérologie peut être réalisée au moyen de tests automatisables (de type *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) par exemple) ou de tests unitaires (généralement immunochromatographiques). Seuls les tests ELISA peuvent être qualitatifs ou semi-quantitatifs, les tests unitaires étant uniquement qualitatifs.

Quel que soit le test, il appartient à la catégorie des Dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (DM-DIV) et est donc soumis à ce titre à la réglementation européenne et à l'obligation de marquage CE en cas de commercialisation. Toutefois, la Commission Européenne dans ses recommandations du 15 avril 2020 sur les tests diagnostiques *in vitro* COVID-19 et leurs performances indique que les Etats membres peuvent, à titre exceptionnel et dans l'intérêt de la protection de la santé, autoriser la commercialisation de tests ne disposant pas du marquage CE.

Modalités de mise en œuvre des tests sérologiques

Les tests ELISA automatisables ne peuvent être réalisés qu'au sein du laboratoire de biologie médicale (LBM), compte tenu du plateau technique nécessaire. Ils sont réalisés sur prélèvement sanguin, généralement par ponction veineuse. Ces tests sont des examens de biologie médicale (EBM). La réalisation au sein d'un LBM garantit également la traçabilité des résultats, que ce soit à l'échelon individuel ou populationnel. Pour ce type de tests, en contexte COVID-19, le marquage CE est octroyé par automarquage par le fabricant.

En revanche, les tests unitaires sont plutôt réalisés sur prélèvement sanguin par ponction capillaire. Ils peuvent en principe être réalisés par différents intervenants en fonction de l'utilisation du test. Ainsi, un même DM-DIV peut avoir trois utilisations possibles :

- **test de diagnostic rapide (TDR)** lorsqu'il est utilisé au sein d'un LBM. Ce test est un examen de biologie médicale (EBM) ainsi soumis aux mêmes exigences (notamment de traçabilité) que les tests automatisables. Le marquage CE est octroyé par automarquage par le fabricant ;
- **test rapide d'orientation diagnostique (TROD)** lorsqu'il est réalisé en dehors d'un LBM (cabinets de ville, officines) par des médecins/pharmaciens non-biologistes, infirmiers. Ces tests ne sont pas des EBM et sont réalisés sous la responsabilité de celui qui le réalise, sans compte-rendu de résultats. Le marquage CE est octroyé par automarquage par le fabricant. Les TROD sont soumis à la publication d'un arrêté ministériel pour être réalisés ;
- **autotest** lorsqu'il est réalisé directement par le patient, sans compte-rendu de résultats. Les autotests ne sont pas des EBM et sont vendus en officine après obtention du marquage CE octroyé par un Organisme notifié.

Interprétation des résultats des tests sérologiques unitaires

L'interprétation des résultats des tests unitaires peut s'avérer problématique et génératrice d'un grand nombre de faux positifs ou de faux négatifs dans ce contexte COVID-19. En effet, beaucoup de résultats de tests unitaires risquent d'être en limite de détection et par conséquent difficile à interpréter. Par ailleurs, l'interprétation des profils IgG/IgM est difficile pour l'utilisateur profane.

Principes d'évaluation des tests diagnostiques (dont les tests sérologiques)

En règle générale, le développement et l'évaluation d'un test diagnostique abordent trois étapes successives :

- **la validité analytique** d'un test diagnostique correspond à son aptitude *in vitro* à réaliser la mesure d'intérêt avec exactitude et fiabilité. En d'autres termes : le test mesure-t-il bien ce qu'il est censé mesurer et de façon correcte ? Cette validation inclut l'étude de la sensibilité analytique et la spécificité analytique, la reproductibilité (concordance intra- et inter-observateur), la robustesse (répétabilité), les limites de détection et de quantification, la linéarité et la satisfaction des contrôles qualité ;
- **la validité clinique** d'un test diagnostique correspond à son aptitude à prédire avec précision et fiabilité le phénotype clinique d'intérêt (malade ou non malade) : y a-t-il une relation, et laquelle, entre les résultats du test et le phénotype d'intérêt ? La validité clinique inclut la sensibilité et la spécificité cliniques, ainsi que les valeurs prédictives positive et négative du test, paramètres que l'on peut réunir sous l'appellation de « performances diagnostiques » du test ;
- **l'utilité clinique** d'un test diagnostique correspond à son aptitude à améliorer le devenir clinique des patients en événements cliniques mesurables, et à apporter une valeur ajoutée en termes d'optimisation de décision de traitement et en corollaire de stratégie thérapeutique. Elle permet la définition de la place du test dans la stratégie diagnostique.

Compte tenu du caractère émergent et récent de la pandémie COVID-19 et par corollaire d'un recul très faible (quelques semaines), nous ne disposons pas, à ce stade, des données épidémiologiques, physiopathologiques et cliniques nécessaires pour réaliser l'évaluation complète des performances diagnostiques (réalisées sur des cohortes prospectives de patients à statut clinique inconnu à l'inclusion) et de l'utilité clinique (cadre de l'utilisation) des tests sérologiques détectant les anticorps anti-SARS-CoV-2.

Toutefois, il est possible et souhaitable d'évaluer dès aujourd'hui la validité analytique et les premiers éléments de performances diagnostiques des tests sérologiques détectant les anticorps anti-SARS-CoV-2, afin de pouvoir s'assurer de leur fiabilité et de minimiser les risques de résultats faux positifs et faux négatifs.

En effet, étant donné le contexte d'urgence sanitaire lié à la pandémie COVID-19 et la nécessité de disposer le plus rapidement possible de tests fiables, **il est primordial que les tests sérologiques puissent être au moins validés sur ces premières dimensions analytiques et cliniques dès aujourd'hui avant leur achat et leur utilisation en routine** : les conséquences d'une erreur de diagnostic (faux positifs ou faux négatifs) pouvant avoir des impacts délétères aux niveaux individuels et collectifs.

C'est pourquoi, la HAS propose le présent cahier des charges qui détaille des critères de qualité et d'exigence vis-à-vis de l'ensemble des tests sérologiques détectant les anticorps spécifiques dirigés contre le SARS-CoV-2.

Ce document s'adresse donc autant aux industriels et équipes académiques souhaitant développer un test sérologique fiable détectant les anticorps spécifiques dirigés contre le SARS-CoV-2 qu'aux structures amenées à évaluer ou valider ces tests sérologiques.

Cahier des charges permettant de faciliter l'évaluation de la validité analytique des tests sérologiques recherchant les anticorps dirigés contre le virus SARS-CoV-2

Afin de s'assurer de leurs fiabilités et de minimiser les risques de résultats faux positifs et faux négatifs, les tests sérologiques à utiliser pour rechercher les anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2 doivent répondre aux critères suivants :

- **les tests utilisés doivent être marqués CE.** Toutefois, la Commission Européenne dans ses recommandations du 15 avril 2020 sur les tests diagnostiques *in vitro* COVID-19 et leurs performances indique que les Etats membres peuvent, à titre exceptionnel et dans l'intérêt de la protection de la santé, autoriser la commercialisation de tests ne disposant pas du marquage CE. Ces recommandations rappellent également que l'ensemble des **données ayant permis d'établir la validité analytique et clinique du test ainsi que les modalités d'obtention de ces données doivent être systématiquement et intégralement intégrées au sein de la documentation technique du test** ;
- **la Commission Européenne a également recommandé de réaliser une validation additionnelle des performances cliniques.** Dans cet esprit, la HAS recommande que les tests sérologiques soient préalablement évalués par le Centre national de référence des virus des infections respiratoires (dont la grippe) avant tout achat/utilisation. Afin de faciliter cette évaluation additionnelle, la HAS recommande que la documentation technique du test soit transmise au CNR par le fabricant.

D'après les multiples recensements effectués, la très grande majorité des tests sérologiques anti-SARS-CoV-2 sont des tests unitaires. La HAS rappelle la nécessité de disposer également de tests automatisables pour permettre le traitement de grandes quantités d'échantillons en parallèle et encourage donc le développement de tests automatisables.

→ Tests concernés

- Tout test sérologique permettant de détecter des anticorps dirigés contre des antigènes du virus SARS-CoV-2 (*cf. infra* concernant les antigènes). Ce test peut être automatisable ou unitaire, qualitatif ou semi-quantitatif.

→ Technique sérologique à utiliser

- Toute technique de sérologie est concernée : ELISA, immunochromatographique etc.

→ Antigènes viraux à utiliser

- Les antigènes viraux recommandés dans le cadre de tests sérologiques **sont la protéine S** (spike), **son domaine RBD**, ou **la protéine N** (protéine de la nucléocapside). Comme évoqué précédemment, il n'y a pas, à ce jour, d'argument pour préférer l'une ou l'autre forme précise de ces protéines virales.

→ Isotypes d'anticorps à détecter

- Les tests sérologiques recommandés doivent **préférentiellement permettre au sein d'un même test de détecter séparément les IgM et les IgG spécifiques des antigènes**

viraux. La détection d'IgA est optionnelle dans l'état actuel des connaissances. Cette configuration IgM/IgG permet de couvrir une période de production d'anticorps plus large (plus précoce avec les IgM et plus tardive avec les IgG). De plus, comme précédemment évoqué, chaque combinaison d'isotype est susceptible d'apporter une information complémentaire concernant le statut de l'infection.

- A ce jour, et jusqu'à preuve du contraire, il n'est pas envisagé de récuser les tests détectant les IgM et IgG sans les discriminer ou les tests uniquement spécifiques des IgG ou des IgM. Toutefois, la réalisation de ces tests pourrait être restreinte à des indications plus limitées que les tests recommandés.
- La qualification précise de chaque isotype d'IgG (IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgG4) voire d'IgA (IgA1, IgA2) n'est pas nécessaire en pratique clinique.

→ **Données de validités du test sérologique à colliger et documenter**

- NB : certaines variables analytiques ne sont déterminées qu'en cas de test semi-quantitatifs.
- Les données de validité analytiques suivantes doivent être réalisées et publiées :
- **la précision** du test exprime la concordance entre les résultats d'une série de différentes mesures réalisées sur plusieurs échantillons constitués à partir d'une même origine présentant la cible recherchée par le test. La précision est appréciée en trois étapes :
 - **la répétabilité** (précision intra-test, avec la mesure du coefficient de variation (Cv) sur au minimum 30 essais),
 - **la précision intermédiaire** (ou reproductibilité intra-laboratoire, également avec la mesure de coefficient de variation réalisée sur les séries de contrôle qualité),
 - **la reproductibilité** (précision inter-observateur) qui exprime les résultats entre différents laboratoires ;
- **l'exactitude** d'un test exprime la concordance entre la valeur du résultat du test en développement et la donnée considérée comme vraie ;
- **la justesse** est l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essai et une valeur de référence acceptée ;
- **la sensibilité analytique (ou limite de détection)** désigne la plus petite quantité d'analyte dans un échantillon pouvant être détectée. Elle peut être mesurée par dilution limite de sérums jusqu'à la dilution pour laquelle il n'y a plus de détection d'anticorps et ce sur au moins 30 sérums. Pour les tests qualitatifs, cette valeur correspond à la valeur seuil de positivité (*cf. infra*) ;
- **la valeur seuil de positivité** : de manière conservatrice, la valeur seuil de positivité est déterminée avec des sérums dilués au 1/10^{ème}. Elle correspond à la valeur de la moyenne + 3 Déviation Standard des mesures du signal observées sur au moins 30 sérums de sujets « sains » ;
- **la spécificité analytique** désigne l'aptitude du test à ne pas présenter de réaction croisée avec d'autres analytes, en l'occurrence en contexte COVID avec d'autres anticorps dirigés contre des virus apparentés au SARS-CoV2, des virus provoquant des infections respiratoires communes, ou d'autres composés connus pour donner des réactions croisées non spécifiques (facteur rhumatoïde notamment). La spécificité analytique du test sérologique est établie en testant des sérums connus pour contenir des Ac dirigés contre des virus responsables d'infections respiratoires (les autres coronavirus dont les beta-coronavirus OC43 ET HKU1 et les alpha-coronavirus NL63 ET 229), le virus de la grippe (une réaction

avec ce dernier témoignant d'un problème majeur de spécificité analytique du test), le facteur rhumatoïde ou de patients présentant d'autres infections (paludisme, dengue...). La spécificité analytique attendue est de 100 %. Dans tous les cas, le fabricant doit indiquer la méthodologie adoptée ayant permis d'estimer la spécificité analytique du test (nombre de sérums testés, qualification des sérums utilisés notamment en termes d'analytes testés (anticorps dirigés contre d'autres virus respiratoires facteur rhumatoïdes) et le cas échéant pour quelle(s) raison(s) la spécificité analytique est inférieure à 100 % ;

- **la sensibilité clinique** est appréciée par la capacité à détecter les Ac (IgM et/ou IgG) dirigés contre le virus SARS-CoV-2, sur des sérums de patients préalablement connus pour être atteints du COVID-19 c'est-à-dire chez lesquels le SARS-CoV-2 a été mis en évidence de manière formelle par un test RT-PCR positif conforme aux exigences de la HAS dans son avis du 06 mars 2020. Dans la mesure où la sensibilité clinique des tests de sérologie peut varier en fonction de la période de prélèvement du test (première ou deuxième semaine après l'apparition des symptômes par exemple), il conviendra de documenter explicitement le panel de sérums ayant conduit à la validation de la sensibilité clinique (nombre total de sérums inclut dans le panel, nombre de sérums pour chaque période de 5 jours après apparition des symptômes, proportion relative de sérums issus de patients symptomatiques/asymptomatiques au sein du panel). **En théorie, une sensibilité clinique de 100 % est attendue afin de minimiser le plus possible le nombre de faux-négatifs.** La sensibilité des tests sérologiques doit donc tendre vers cette valeur. **Toutefois, compte tenu des connaissances actuelles, la valeur seuil minimale acceptable pour la sensibilité clinique est estimée à 90 % ou 95 % selon l'usage du test. Ces valeurs seront revues périodiquement en fonction de l'expérience acquise dans l'évaluation des tests sérologiques et adaptées en fonction de l'objectif du test et donc de son indication.** Néanmoins, dans tous les cas, le fabricant doit indiquer la valeur de la sensibilité clinique de son test ainsi que la méthodologie adoptée pour estimer cette valeur de sensibilité clinique (modalités de calcul, nature du comparateur) ;
- **la spécificité clinique** correspond à la probabilité d'avoir un test négatif chez les non-malades, c'est-à-dire s'assurer que le test ne détecte pas d'Ac (IgM et/ou IgG) dirigés contre le virus SARS-CoV-2, sur des sérums de donneurs sains (donneurs pré-épidémiques par exemple). Afin de minimiser le nombre de faux positifs et compte tenu de connaissances actuelles, **la valeur seuil minimale acceptable pour la spécificité clinique est estimée à 98 % quels que soient les tests sérologiques.** Ces valeurs seront revues périodiquement en fonction de l'expérience acquise dans l'évaluation des tests sérologiques et **adaptées** en fonction de l'objectif du test et donc de son indication. Néanmoins, dans tous les cas, le fabricant doit indiquer la valeur de la spécificité clinique de son test ainsi que la méthodologie adoptée pour estimer cette valeur (modalités de calcul, nature du comparateur).

Il est rappelé qu'en l'absence de données robustes sur la prévalence de l'infection COVID-19, la détermination des valeurs prédictives positives et négatives (VPP et VPn) n'est pas pertinente aujourd'hui.

Enfin, ce cahier des charges évoluera en fonction de l'arrivée de nouvelles données scientifiques et de l'expérience qui sera acquise lors de l'évaluation des tests sérologiques à venir, notamment au niveau du CNR et lors des usages des tests.

La HAS recommande de disposer des résultats des évaluations de performances menées sur la base des éléments du présent cahier des charges préalablement à tout achat et utilisation de tests sérologiques.

La stratégie d'utilisation de ces tests sera précisée dans un prochain avis.

Perspectives

Ce premier travail de la HAS portant sur la qualification des tests sérologiques s'inscrit dans une approche plus globale sur la stratégie d'utilisation de ces tests :

- la caractérisation complète de la production d'anticorps, de leur rôle protecteur et de la fenêtre sérologique pour l'ensemble des catégories de patients ;
- la pertinence et l'impact en santé publique du recours aux autotests, lorsque les données de pratique des tests unitaires seront disponibles ;
- la définition précise de la place des tests sérologiques dans la stratégie de prise en charge du COVID-19, tant au niveau de la définition des indications (diagnostic, suivi, épidémiologie) que sur l'articulation entre les différents types de tests (RT-PCR/sérologie et sérologie automatisée/unitaire) pour chacune de ces situations et sur son usage potentiel lors du déconfinement.

Ces questions seront donc traitées par la HAS dans d'autres travaux à venir prochainement, en coordination avec l'ensemble des acteurs professionnels (publics et privés), patients, institutionnels... impliqués dans la définition de la prise en charge du COVID-19 sur le territoire national. Sous réserve de la disponibilité des données scientifiques requises, la production d'une première version de ce second volet pourrait survenir pour fin avril 2020, avec une actualisation possible début mai, toujours en fonction de l'évolution rapide des connaissances scientifiques.

Références bibliographiques (à la date du 14 avril 2020)

1. Cassaniti, I., et al. (2020). "Performance of VivaDiag COVID-19 IgM/IgG Rapid Test is inadequate for diagnosis of COVID-19 in acute patients referring to emergency room department." J Med Virol.
2. Conseil Scientifique COVID-19. Avis du 02 avril 2020 : Etat des lieux du confinement et critères de sortie ; 2020.
3. Dong, X., et al. (2020). "Eleven faces of coronavirus disease 2019." Allergy.
4. Du, Z., et al. (2020). "Detection of antibodies against SARS-CoV-2 in patients with COVID-19." J Med Virol.
5. European Commission. Communication from the Commission : Guidelines on COVID-19 in vitro diagnostic tests and their performance (15.04.20) ; 2020.
6. Guo, L., et al. (2020). "Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19)." Clin Infect Dis.
7. Haute Autorité de Santé. Avis n°2020.0020/AC/SEAP du 6 mars 2020 du collège de la HAS relatif à l'inscription sur la LAP mentionnée à l'article L. 162-1-7 du CSS, de la détection du génome du coronavirus SARS-CoV-2 par technique de transcription inverse suivie d'une amplification. Saint Denis la Plaine : HAS; 2020. https://www.has-sante.fr/jcms/p_3161218/fr/avis-n2020-0020/ac/seap-du-6-mars-2020-du-college-de-la-has-relatif-a-l-inscription-sur-la-lap-mentionnee-a-l-article-l-162-1-7-du-css-de-la-detection-du-genome-du-coronavirus-sars-cov-2-par-technique-de-transcription-inverse-suivie-d-une-amplification

8. Haveri, A., et al. (2020). "Serological and molecular findings during SARS-CoV-2 infection : the first case study in Finland, January to February 2020." *Euro Surveill* 25(11).
9. Huang, C., et al. (2020). "Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China." *Lancet* 395(10223): 497-506.
10. Jiang, S., et al. (2020). "Neutralizing Antibodies against SARS-CoV-2 and Other Human Coronaviruses." *Trends Immunol.*
11. Jin, Y., et al. (2020). "Diagnostic value and dynamic variance of serum antibody in coronavirus disease 2019." *Int J Infect Dis.*
12. Lee, N. Y., et al. (2020). "A case of COVID-19 and pneumonia returning from Macau in Taiwan : Clinical course and anti-SARS-CoV-2 IgG dynamic." *J Microbiol Immunol Infect.*
13. Li, Z., et al. (2020). "Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis." *J Med Virol.*
14. Liu, W., et al. (2020). "Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-based ELISAs for detecting antibodies against SARS-CoV-2." *J Clin Microbiol.*
15. Ministère des solidarités et de la santé, Ministère de l'intérieur. Circulaire du 09 avril 2020 : Déploiement des nouvelles capacités de tests de dépistage.
16. Okba, N. M. A., et al. (2020). "Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease 2019 Patients." *Emerg Infect Dis* 26(7).
17. Pan, Y., et al. (2020). "Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients." *J Infect.*
18. To, K. K., et al. (2020). "Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2 : an observational cohort study." *Lancet Infect Dis.*
19. Wang, Q., et al. (2020). "A method to prevent SARS-CoV-2 IgM false positives in gold immunochromatography and enzyme-linked immunosorbent assays." *J Clin Microbiol.*
20. World Health Organisation. Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19 ; 2020.
21. Zhao, J., et al. (2020). "Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019." *Clin Infect Dis.*
22. Zheng, C., et al. (2020). "Risk-adapted Treatment Strategy For COVID-19 Patients." *Int J Infect Dis.*
23. Zhong, L., et al. (2020). "Detection of serum IgM and IgG for COVID-19 diagnosis." *Sci China Life Sci.*

Méthode d'élaboration et avertissement

Ces préconisations s'appuient sur les travaux publiés mentionnés ci-dessus ainsi que sur les auditions du Centre national de référence des « virus des infections respiratoires (dont la grippe) » le 01 avril 2020 (site de Paris) et le 09 avril 2020 (site de Lyon) en tant que parties prenantes.

Validation par le collège de la HAS en date du 16 avril 2020.

Liste des participants

Haute Autorité de santé : Nassim Brahmi

Haute Autorité de santé : Denis-Jean David

Haute Autorité de santé : Cédric Carbonneil

**Ce document est élaboré sur la base des connaissances disponibles à la date de sa publication.
Il est susceptible d'évoluer en fonction de nouvelles données.**

**Cahier des charges définissant les modalités d'évaluation des performances des tests sérologiques détectant les anticorps
dirigés contre le SARS-CoV-2**

Toutes nos publications sont téléchargeables sur www.has-sante.fr