

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ACE2 : Enzyme de conversion de l'angiotensine 2

ADN : Acide Désoxyribonucléique

Ag : Antigène

ARN : Acide ribonucléique

CDC : Centre de contrôle et la prévention des maladies

DASRI : Déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés

ELISA : Enzyme Linked immunosorbent assay

FN : Faux négatifs

FP : Faux positifs

HAS : Haute autorité de santé

IgM : Immunoglobuline de type M

IgG : Immunoglobuline de type G

IL : Interleukine

INF : Interféron

LBA : Lavage broncho-alvéolaire

LDH : Lactate déshydrogénase

NLRP3 : protéine activatrice de l'inflamasome

NSP : Protéine non structurale

OMS : Organisation mondiale de la santé

PCR : Réaction de polymérisation en chaîne

Pp1a: Protéine phosphatase 1

RBD: Domaine de liaison au récepteur

RT-PCR : Réaction de polymérisation en chaîne par transcription inverse

TDR : Test diagnostic rapide

TROD : Test d'orientation diagnostic

VP : Vrais positifs;

VN : Vrais négatifs;

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Classification du Sars-Cov-2	6
Figure 2 : organisation génomique du Sars-Cov-2	7
Figure 3 : Représentation schématique de la structure du SARS-CoV-2	7
Figure 4 : Culture cellulaire de Sars-Cov-2 sur cellules (Vero E6).....	12
Figure 5 : Cycle de réplication virale du SARS-CoV-2	18
Figure 6 : Mécanismes de la coagulopathie de la COVID-19 ...	19
Figure 7 : Procédure de dosage RT-PCR	22
Figure 8 : Courbes de cinétique des anticorps par rapport aux symptômes cliniques.....	25
Figure 9 : Principe de la technique ELISA pour le dosage des IgM/IgG	27
Figure 10 : Test Immunochromatographique COVID-19 sur bandelette de nitrocellulose	28
Figure 11 : Principe de test rapide de détection des Antigènes	29
Figure 12 : Boite de SARS-CoV-2 Antibody Test (Fabricant: Wondfo).....	35
Figure 13 : Composition du kit 2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device (Fabricant : REALY TECH).....	36
Figure 14 : Lecture après 15 minutes et interprétation des résultats 2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device	38
Figure 15 : Lecture après 15 minutes et interprétation des résultats kit SARS-CoV-2 Antibody Test (Fabricant: Wondfo®).....	38

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Échantillons testés	41
Tableau II : Résultats des tests sérologiques chez les témoins négatifs.....	41
Tableau III : Tableau de contingence des tests sérologiques réalisés chez les patients covid positifs (RT-PCR positive) et les patients guéris.....	42
Tableau IV : Tableau de contingence des tests sérologiques selon le type d'Ig	43
Tableau V : Tableau de contingence des tests sérologiques réalisés chez les patients COVID positifs et guéris	43

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LE SARS-COV-2.....	5
I.1. Définition	5
I.2. Classification.....	5
I.3. Structure	6
I.4. Caractères antigéniques	8
I.5. Caractères physico-chimiques	10
I.6. Caractères cultureaux.....	11
I.7. Multiplication virale.....	12
I.8. Physiopathologie.....	15
I.9. Épidémiologie	19
I.10. Diagnostic Biologique	21
I.10.1. Prélèvements	21
I.10.2. Détection de l'acide nucléique.....	21
I.10.3. Isolement et culture du virus.....	22
I.10.4. Détection d'anticorps de sérum	22
I.10.5. Diagnostic paraclinique	23
CHAPITRE II : PLACE DES TESTS SEROLOGIQUES DANS LE DIAGNOSTIC DE LA COVID-19.....	24
II.1. Définition.....	24
II.2.Cinétique des anticorps.....	24
II.2.1. Évolution des anticorps sériques	24
II.2.2. Puissance et persistance de la réaction immunitaire	25
II.3. Les tests sérologiques	26
II.3.1. les Tests automatisables Elisa (<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)	26
II.3.2. Les tests sérologiques de diagnostic rapide (TDR)	27
II.3.3. Les tests rapides de détection des antigènes du virus sars-cov-2	28

II.3.4. Autres tests.....	30
II.4. Prélèvements.....	30
II.5. Indications des tests sérologiques.....	30
DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL EXPERIMENTAL	33
I. MATERIEL ET METHODES.....	34
I.1.Type et cadre d'étude	34
I.2. Population d'étude	34
I.3. Prélèvements	34
I.4. Paramètres étudiés.....	34
I.5. Méthodes	35
I.5.1. Composition des TDR.....	35
I.5.1.1. kit SARS-CoV-2 Antibody Test (Fabricant: Wondfo®).....	35
I.5.1.2. kit 2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device (Fabricant: REALY TECH).....	35
I.5.2. Réalisation du test.....	36
I.5.3. Interprétation des résultats	37
I.5.4. Exploitation statistique.....	39
RESULTATS	40
II. RESULTATS.....	41
II.1. Caractéristiques générales des échantillons testés.....	41
II.2. Evaluation de la spécificité clinique.....	41
II.3.Evaluation de la sensibilité Clinique	42
II.3.1. 2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device	42
II.3.2. SARS-CoV-2 Antibody Test.....	43
DISCUSSION.....	44
CONCLUSION.....	48
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	51

INTRODUCTION

La famille des coronavirus est responsable d'infections respiratoires chez les mammifères et les oiseaux. Il s'agit de virus à ARN, regroupés en quatre sous familles dont deux sont responsables de pathologies sévères et potentiellement mortelles : le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV, identifiés respectivement en 2003 et 2012 [2-4]. En décembre 2019, l'apparition de plusieurs cas de pneumopathies d'origine inconnue dans la province de Hubei en Chine, a conduit à l'identification, en janvier 2020, d'un nouveau coronavirus [8], appelé SARS-CoV-2 par le groupe de travail Coronavirus du comité international de taxonomie des virus [9]. Le SARS-CoV-2 provoque une maladie respiratoire parfois sévère, nommée « COVID-19 » par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Après l'Asie, l'Europe, les États-Unis et l'Iran sont les régions du monde les plus touchées [12]. La particularité de ce virus est sa forte transmission interhumaine nécessitant ainsi un diagnostic précis afin d'isoler les malades, lutter contre la propagation de la pandémie. La RT-PCR constitue la méthode de première intention pour le diagnostic de l'infection au SARS-CoV-2, les tests sérologiques représentent un enjeu majeur pour évaluer le statut immunitaire des populations contre le virus et mieux comprendre l'épidémiologie. L'utilité clinique d'un test TDR sérologique dépend de plusieurs facteurs dont ses performances (sensibilité et spécificité cliniques), le contexte épidémiologique dans lequel il est utilisé (prévalence) et enfin le moment où le test est réalisé en relation avec la cinétique des anticorps au cours de la maladie.

L'objectif général de ce travail est d'évaluer les performances de deux TDR destinés au diagnostic indirect de l'infection au SARS-CoV-2.

Les objectifs spécifiques de ce travail ont été :

- Déterminer la Spécificité clinique globale des deux TDR
- Déterminer la Sensibilité clinique globale des deux TDR
- D'évaluer les performances selon le type d'immunoglobuline pour chaque TDR

La première partie du document porte sur une revue bibliographique relative au SARS-CoV-2 et la place des tests sérologiques dans le diagnostic de la Covid-19. La seconde présente la méthodologie utilisée, les principaux résultats obtenus, la discussion et la conclusion.

**PREMIERE PARTIE : REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LE SARS-COV-2

I.1. Définition

Le SARS-CoV-2 est le nom officiel du nouveau coronavirus identifié le 9 janvier 2020 dans la ville de Wuhan, chef-lieu de la province du Hubei en Chine. Il est l'agent étiologique de l'épidémie de pneumopathie infectieuse qui s'est répandue en Chine et dans le monde à partir de fin décembre 2019. Cette maladie a été nommée COVID-19 par l'OMS, le 11 février 2020.

I.2. Classification

Le virus SARS-CoV-2 appartient, comme le virus du SRAS, à l'espèce SARS-CoV (*Severe acute respiratory syndrom-related Coronavirus*), au genre *Betacoronavirus* et à la famille des *Coronaviridae* (**Figure 1**). La morphologie des virions est typique de celle des coronavirus [1], avec notamment le halo de protubérances constituées de péplomères de protéines virales « *Spike* » (spicule), qui leur a donné leur nom (« virus à couronne »). Le nombre de génomes isolés et séquencés croît rapidement ainsi que leurs origines géographiques ; ils sont plus de 5 000 au 10 mai 2020 [2] (les premiers génomes séquencés, originaires de Wuhan, l'ont été par le CDC chinois, l'Institut de biologie des agents pathogènes et l'hôpital Wuhan Jinyintan) [3]. Ceci a permis de rapidement montrer que SARS-CoV-2 a des similitudes avec les *Betacoronavirus* trouvés chez les chauves-souris [4]. Il forme une souche virale génétiquement distincte des autres coronavirus humains MERS ou d'autres espèces plus bénignes, mais appartenant à la même espèce biologique que le SARS-CoV, dans le sous-genre *Sarbecovirus* [5].

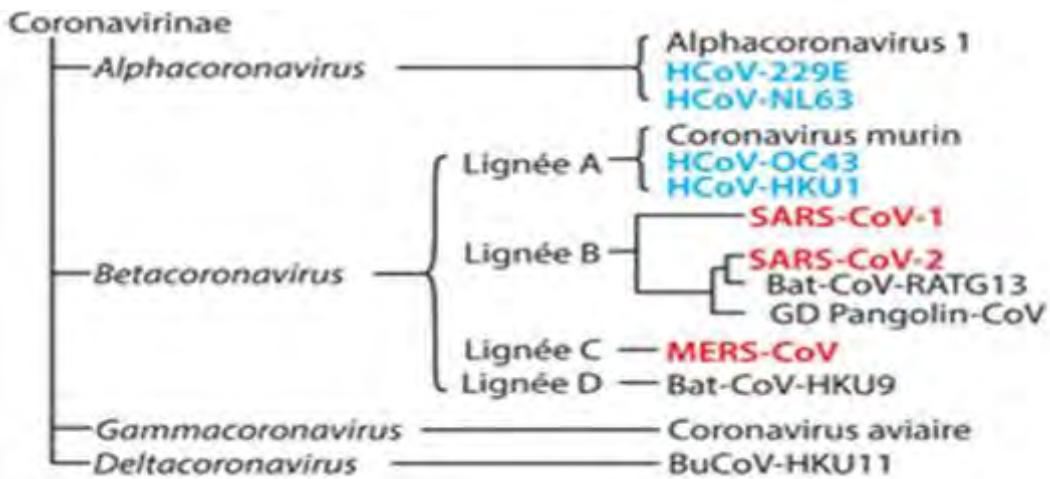


Figure 1 : Classification du Sars-CoV-2[43]

I.3. Structure

Le sars-cov-2 est un virus enveloppé à ARN monocaténaire positivement polarisé de 29,9 kb [6]. Les deux tiers du génome codent pour un vaste gène réplicase (composé de *orf1a* et *orf1b*) qui sera traduit en deux polyprotéines, par la suite clivées en seize protéines non structurales indispensables à la réplication virale [7]. Le tiers restant du génome code essentiellement pour les protéines de structures du virus dont quatre glycoprotéines membranaires, la protéine spike (s), l'hémagglutinine-estérase (he), les protéines de membrane (m), d'enveloppe (e) et la protéine de capsidé (n) (**figure 2**). La nucléocapsidé, hélicoïdale, formée de la protéine de capsidé (n) complexée à l'ARN viral, est protégée par une enveloppe phospholipidique dans laquelle sont enchâssées les glycoprotéines de surface (s, he, m et e). La protéine s est la protéine qui lie le récepteur cellulaire du sars-cov-2 (ACE2) et permet l'entrée dans la cellule. Elle est formée de deux sous-unités : s1 qui contient le domaine de liaison au récepteur cellulaire, et s2 qui est essentiel pour la fusion du virus à la membrane cellulaire (**figure 3**).

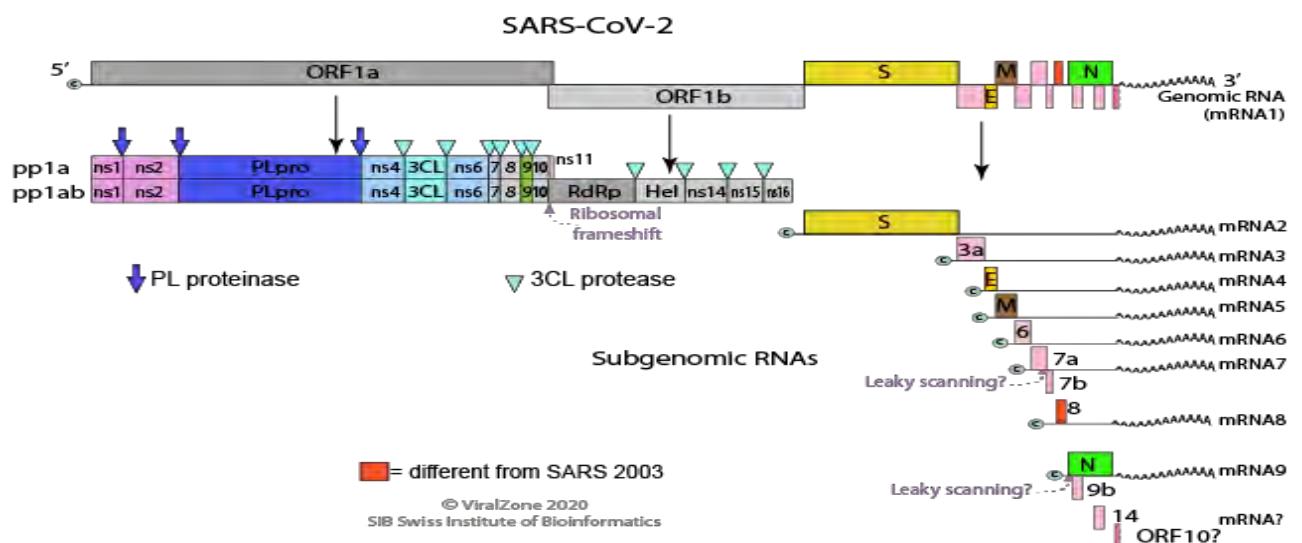


Figure 2 : organisation génomique du Sars-Cov-2[7]

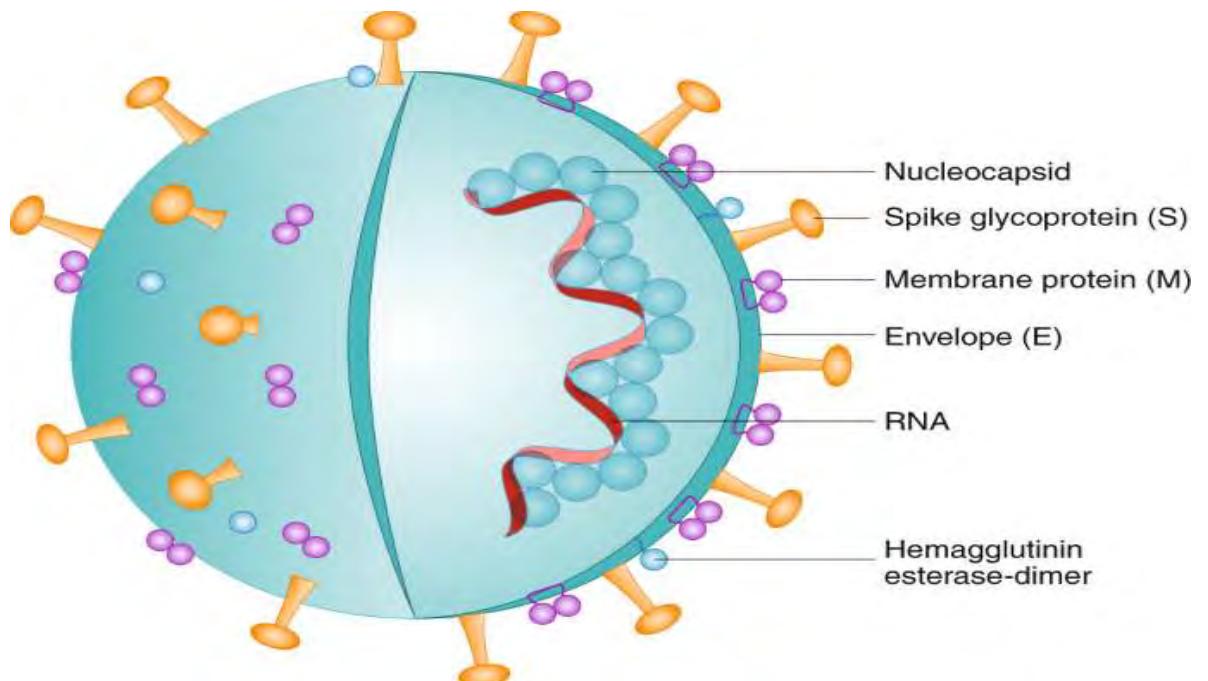


Figure 3 : Représentation schématique de la structure du SARS-CoV-2[44]

I.4. Caractères antigéniques

Comme tous les autres coronavirus, le génome du CoV-2 du SRAS (2019-nCoV) code pour la protéine de pointe, la protéine d'enveloppe, la protéine de membrane et la protéine de nucléocapside [8].

✓ Protéine de pointe S - Antigènes (Protéines et peptides)

Cette protéine transmembranaire de type I est présente sur l'enveloppe virale sous la forme d'un homotrimère. Chaque monomère se compose de 2 sous-unités, S1 et S2. La sous-unité S1 contient un domaine RBD (receptor binding domain) qui se fixe au récepteur ACE2 sur la membrane de la celle hôte. La sous-unité S2 est activée par la liaison entre S1 et le récepteur ACE2 et contient les éléments nécessaires à la fusion membranaire. La protéine S joue donc un rôle important dans l'infection par le SARS-CoV-2 ainsi que dans l'induction des réponses des anticorps de neutralisation et des cellules T et dans l'immunité protectrice [9].

✓ Protéine de nucléocapside N - Antigènes (Protéines et peptides)

La protéine de nucléocapside ou protéine N ou ribonucléoprotéine est la protéine la plus abondante des coronavirus. Cette protéine de 50 kDa codée par le gène ORF9b est une phosphoprotéine hautement immunogène également impliquée dans la réplication du génome viral et dans la modulation des voies de signalisation cellulaire. Lors de l'assemblage du virion, la protéine N se lie à l'ARN viral et entraîne la formation de la nucléocapside hélicoïdale. En raison de la conservation de la séquence de la protéine N et de sa forte immunogénicité, la protéine de nucléocapside du coronavirus est choisie comme outil de diagnostic ou comme cible potentielle pour la mise au point de nouveaux vaccins [10].

✓ Protéine d'enveloppe E

La protéine d'enveloppe, ou protéine E, est un petit polypeptide de 100 résidus qui contient au moins un domaine transmembranaire hélicoïdal α et un groupe de 2-3 cystéines juxta membranaires. Elle intervient dans plusieurs processus du

cycle de vie du virus, tels que l'assemblage, le bourgeonnement, la formation de l'enveloppe et la pathogénèse. La protéine E a une activité de perméabilisation de la membrane, ce qui pourrait justifier l'inhibition *in vitro* de l'activité des canaux ioniques de certaines protéines E synthétiques du coronavirus, ainsi que de la réplication virale. Elle agit comme une viroporine et s'auto-assemble dans les membranes de l'hôte en formant des pores protéino-lipidiques pentamérique qui permettent le transport des ions. Elle joue également un rôle dans l'induction de l'apoptose, active l'inflammasome NLRP3 de l'hôte, ce qui entraîne une surproduction d'IL-1 bêta [11].

✓ **Hélicase (Protéine H)**

La protéine non structurelle 13 (nsp13) du SARS-CoV-2 est une hélicase qui sépare l'ARN ou l'ADN double brin d'une polarité de 5'-3', en utilisant l'énergie de l'hydrolyse des nucléotides. Une caractérisation biochimique de base de la nsp13 a démontré qu'elle peut dérouler l'ADN et l'ARN double brin dans une direction de 5'-3', et qu'elle peut hydrolyser tous les désoxyribonucléotides et ribonucléotides triphosphates. Les hélicases sont des protéines motrices qui utilisent l'énergie dérivée de l'hydrolyse des nucléotides pour dérouler les acides nucléiques double brin en deux acides nucléiques simples brins. Au départ, on considère que les hélicases étaient uniquement des moteurs moléculaires qui déroulaient les acides nucléiques pendant la réplication, la recombinaison et la réparation de l'ADN. Des études récentes ont montré qu'elles sont également impliquées dans d'autres processus biologiques, notamment le déplacement des protéines de l'acide nucléique, le mouvement des jonctions de Holliday, le remodelage de la chromatine, la catalyse des changements conformationnels des acides nucléiques, plusieurs aspects du métabolisme de l'ARN, y compris la transcription, l'épissage de l'ARNm, l'exportation de l'ARNm, la traduction, la stabilité de l'ARN et l'expression des gènes mitochondriaux [12].

✓ Protéase de type papaïne (PLPro)

Les protéases des coronavirus, comme le SARS-CoV-2, la protéase de type papaïne (PLpro pour papain-like protease) et la protéase de type 3C (3CLpro pour 3C-like protease), sont des cibles antivirales intéressantes car elles sont essentielles à la réplication des coronavirus.

La PLPro est une protéase localisé dans la protéine non structurale 3 (NS3) du polypeptide viral. La PLpro a la fonction supplémentaire de retirer l'ubiquitine et l'ISG15 des protéines des cellules hôtes pour aider les coronavirus à échapper aux réponses immunitaires innées de l'hôte. En effet, l'action de la PLPro perturbe les voies de signalisation de l'INF beta et de NF-kappa B. Le ciblage de la protéase de type papaïne avec des médicaments antiviraux peut avoir un avantage non seulement en inhibant la réplication virale, mais aussi en inhibant le dérèglement des cascades de signalisation dans les cellules infectées qui peuvent conduire à la mort cellulaire dans les cellules environnantes non infectées[13].

I.5. Caractères physico-chimiques

✓ Les substances virucides

Le coronavirus Sars-Cov-2 est un virus à enveloppe très facilement détruit ou inactivé par un grand nombre de substances antiseptiques, de détergents ou autres produits(savon, liquide de vaisselle et de lessive etc)[14].

✓ La température

Plusieurs études montrent que le Sars-cov-2 et plusieurs autres coronavirus sont sensibles à l'augmentation de la température, sans doute en raison de l'action de cette dernière sur les protéines du virus. Il est très stable à 4°C et sa résistance sur des supports secs comme dans les sérums destinés à les conserver diminue progressivement avec la chaleur. Il est inactivé à 60° en 30 minutes [14].

✓ L'humidité

Plusieurs études laissent penser que le virus aurait une persistance plus faible dans les milieux humides [15].

✓ Le pH

Nombre de virus sont sensibles au pH de leur environnement. Cependant, le coronavirus SAS-Cov-2 semble cependant **très résistant aux milieux acides et basiques. Il résiste bien à des pH entre 2,2 et 12.** Il incomplètement inactivé par un pH 13[15].

✓ Persistance sur les surfaces

Les études montrent une plus faible résistance de Sars-Cov-2 et/ou Sars-cov sur deux types de supports :

- sur le **cuivre** qui a des propriétés chimiques naturellement biocides
- sur les **supports poreux** : papier, carton, textile

Il résiste plus longtemps (**jusqu'à 3 jours**) sur des supports tels que le plastique, le métal, etc[16].

I.6. Caractères culturaux

Une culture de virus pousse de façon extrêmement rapide avec un délai de 4 jours. Mise en culture se fait sur ces cellules (Vero E6) les prélèvements trouvés positifs pour ce virus [17]. (**Figure 4**). Le résultat de la culture dépend de :

- ✓ La charge virale qui doit être importante
- ✓ La qualité des prélèvements



Figure 4 : Culture cellulaire de Sars-Cov-2 sur cellules (Vero E6) [45]

A gauche, tapis cellulaire non abîmé par les virus. A droite, tapis cellulaire avec effet cytopathogène (ECP) visible, les cellules infectées par le virus sont détruites.

I.7. Multiplication virale [18]

Le virus est un pathogène intracellulaire obligatoire, et doit pénétrer dans une cellule hôte pour pouvoir se multiplier (**Figure 5**). La première étape de ce processus est donc l'entrée du matériel viral dans le cytoplasme après avoir franchi la membrane cellulaire. L'étape d'entrée débute par l'attachement de la particule virale à la surface de la cellule. Celle-ci repose sur l'interaction entre les spicules à la surface de la particule virale (protéine S du SARS-CoV-2) et la glycoprotéine *angiotensine-converting enzyme 2 (ACE2)* qui agit en tant que récepteur d'entrée. Après fixation à ACE2, la spicule virale (S) est coupée en deux parties par une protéase (enzyme qui coupe les protéines) de la cellule hôte.

Cet évènement moléculaire est nécessaire pour exposer une partie de la séquence polypeptidique de S appelée « peptide de fusion » qui s'insère dans la membrane cellulaire. S'ensuit un rapprochement entre l'enveloppe du virus et la membrane cellulaire, toutes deux formées par une bicouche lipidique qui

fusionneront. Parmi ces protéases, la molécule TMPRSS2 qui est présente à la surface de la cellule permet la fusion du virus avec la membrane plasmique de la cellule hôte. Le virus peut également entrer par « endocytose »: la fixation de Spike à ACE2 va induire une invagination de la membrane plasmique, englobant le virus qui rentre dans un « endosome » où une protéase, activée par l'acidité de ce compartiment, permettra de déclencher la fusion entre la membrane endosomale et la membrane virale.

La fusion entre les membranes cellulaires et virales libère l'ARN viral dans le cytoplasme cellulaire où se met en place la réplication du virus. La présence du récepteur viral est un déterminant majeur de la reconnaissance spécifique entre le virus et l'hôte (ou tropisme), c'est-à-dire la cellule, le tissu ou même l'espèce animale dans laquelle le virus peut se multiplier. SARS-CoV-2 peut donc infecter les cellules humaines exprimant ACE2 : cellules du poumon, des artères, du cœur, des reins et de l'intestin. Une fois à l'intérieur de la cellule hôte, le virus va détourner les processus cellulaires (on parle aussi de machineries) de production de protéines (traduction) au profit de la synthèse de ses propres composants.

L'ARN viral est traduit par les ribosomes (usines où l'ARN messager contenant l'information génétique est converti en protéine fonctionnelle). Ce processus met en jeu les ARN de transfert cellulaires (ARNt) qui mettent en correspondance un « codon » de trois nucléotides et un acide aminé donné. Dans une phase précoce de la traduction, deux poly-protéines précurseurs (pp1a et pp1ab) sont produites. Celles-ci possèdent une activité protéase responsable de leur auto-clivage en plusieurs protéines mûrées, dites non structurales (car ne participant pas à la formation de la particule virale). Ces protéines forment le complexe réplicase-transcriptase (CRT) nécessaire à la multiplication du génome viral. Parmi elles on trouve l'ARN polymérase ARN-dépendante ou réplicase (RdRp), qui permet de faire de nouvelles copies du génome viral ARN. Au sein du CRT, de petits transcrits viraux dit subgénomiques sont aussi

produits. Ils codent les protéines structurales (M, E, S et N) qui composent la particule virale. Dès qu'elles émergent des ribosomes, les protéines M, E et S sont insérées dans la membrane du réticulum endoplasmique cellulaire. La protéine N (ribonucléoprotéine) est responsable de la reconnaissance et l'empaquetage du génome viral répliqué pour former la nucléocapside. Via la protéine N la nucléocapside va aussi interagir avec la protéine M pour initier la formation de la nouvelle particule virale. Ainsi, des vésicules composées des protéines virales membranaires, et englobant la nucléocapside, émergent dans le lumen (l'intérieur) d'un compartiment dérivé du réticulum endoplasmique, appelé « ERGIC » (processus appelé bourgeonnement) (2). Au cours de cette étape la protéine S est incorporée dans la particule virale naissante.

Les virus ainsi constitués sont acheminés à la surface de la cellule infectée en suivant la voie de sécrétion (appareil de Golgi, puis vésicules sécrétoires) puis libérés dans le milieu extracellulaire par « exocytose », prêts à infecter d'autres cellules. Le virus détourne donc à son profit tant les ribosomes et les ARNt, que toutes les organelles et machineries mis en jeu dans la voie de sécrétion des protéines (acheminement du réticulum endoplasmique à la surface cellulaire ou au milieu extérieur).

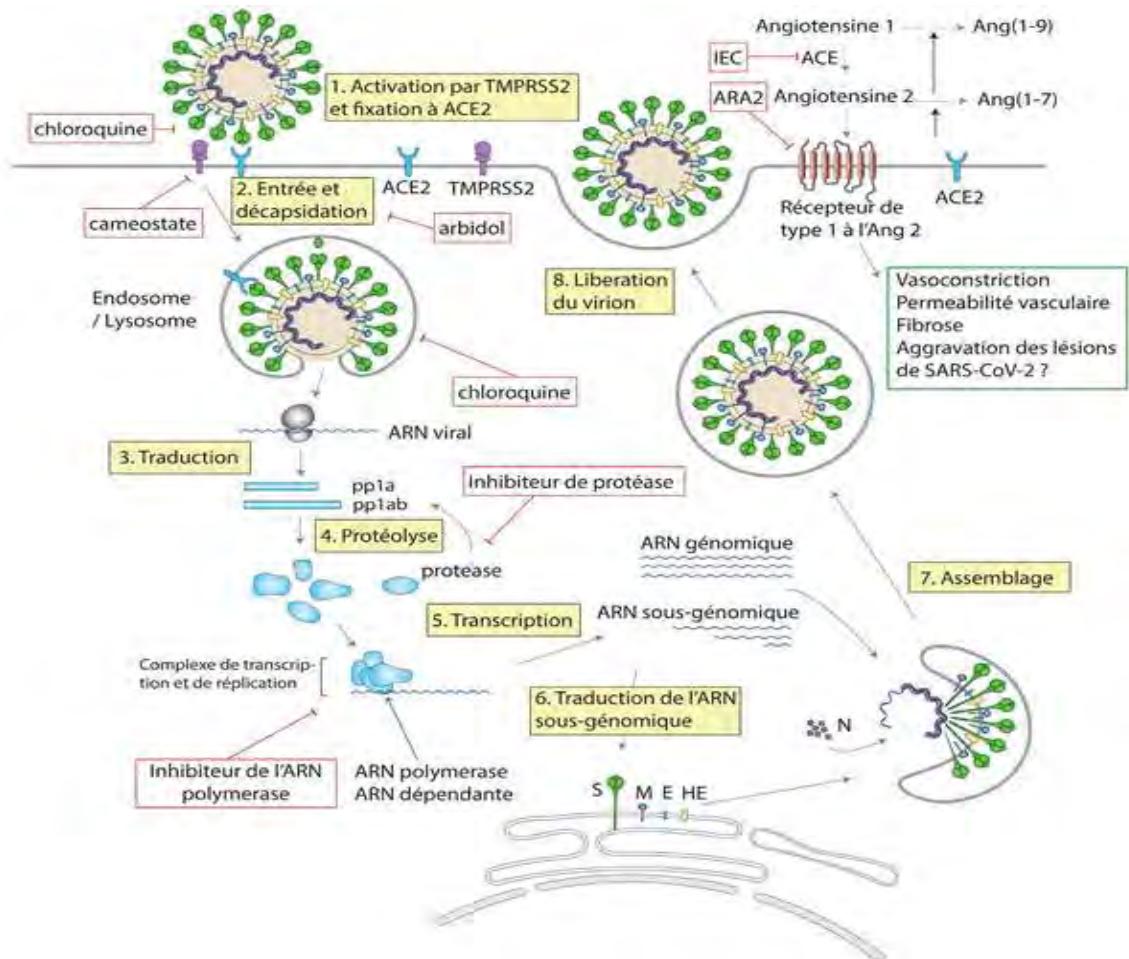


Figure 5 : Cycle de réplication virale du SARS-CoV-2 [18]

I.8. Physiopathologie

Les déterminants de la réponse immunitaire immédiate au SARS-CoV-2 ne sont pas encore connus, mais peuvent être extrapolés à partir des modèles d'infection virale (Figure 6). L'infection des cellules épithéliales et immunitaires du tractus respiratoire génère plusieurs signaux de danger, reconnus par différents récepteurs (Pattern Recognition Receptors, ou PRRs) liant l'ARN viral (TLRs 3, 7, 8, RIG-1, MDA-5) ou des protéines de surface virales (TLR 2, TLR 4). Ces récepteurs vont ensuite activer des facteurs de transcription (IRF-3, IRF-7, AP-1, NF-KB) [19]. Cette activation entraîne la sécrétion de cytokines (TNF- α , IL-1, IL-6) entraînant une hyper perméabilité capillaire et l'attraction de cellules inflammatoires, et d'interférons de type I (IFN-1), qui promeuvent l'expression de gènes cibles (ISG, pour interferon-stimulated

genes) [20]. Ces interférons vont promouvoir l'expression de gènes cibles (ISG pour interferon-stimulated genes), par liaison à leur récepteur IFNAR, signalant par JAK/STAT [21]. La voie des interférons de type I est centrale dans la réponse antivirale initiale, et permet notamment d'inhiber la réplication virale, de protéger les cellules non-infectées et de stimuler l'immunité lymphocytaire antivirale (lymphocytes T CD8, NK) conduisant à la lyse des cellules infectées [22]. L'activation des facteurs de transcription entraîne une sécrétion cytokinique initiale par les cellules infectées (interférons, TNF-a, IL-1, IL-6, chimiokines). Les antigènes viraux sont internalisés par les cellules présentatrices d'antigène, apprêtés puis présentés via les complexes majeurs d'histocompatibilité de type 1 (pour l'ARN viral) et de type 2 (pour les protéines de surface) aux lymphocytes T CD4, CD8 et lymphocytes B, polarisés par la sécrétion cytokinique initiale, assurant l'instauration d'une immunité durable.

➤ **Évasion virale et échappement au système immunitaire**

L'existence de mécanismes d'évasion immunitaire n'a, à cette date, pas été prouvée pour le SARS-CoV-2. Cependant, plusieurs virus de la famille des coronavirus ont développé des stratégies d'échappement au système immunitaire. Cette évasion virale repose sur plusieurs mécanismes [23]:

- échappement à la reconnaissance antigénique par les PRR via la production de vésicules à double membrane abritant le complexe de réplication viral ;
- diminution de la signalisation des PRR par liaison compétitive de la protéine N à TRIM25, bloquant ainsi la signalisation de RIG-1, ou encore par la protéine NSP16 qui prévient la reconnaissance de l'ARN viral par MDA-5;
- inhibition de l'induction de la voie des interférons par inhibition de la signalisation de STING (protéines PLP-2-TM et Plpro-TM des SARS-CoV-1 et H-CoV-NL63) et d'IRF-3 (protéines PLpro du SARS-CoV-1 et ORF4, ORF5 du MERS-CoV qui inhibent sa phos- phorylation et sa translocation nucléaire);

- blocage de la signalisation des interférons, via la régulation négative de l'expression d'IFNAR et de la phosphorylation de STAT-1 (par la protéine NSP3);
- blocage de la signalisation NF-KB par les protéines PLP du SARS-CoV-1 et ORF4b, ORF5 du MERS-CoV.

Le SARS-CoV-2 partage l'expression de plusieurs de ces protéines virales associées à l'évasion immunitaire, et des modélisations d'interaction protéique suggèrent que ses protéines NSP13 et NSP15 pourraient également interagir avec la protéine TBK-1 et diminuer l'activation d'IRF-3 [25].

➤ **Une réponse immunitaire amplifiée à la seconde phase de l'infection**

L'inefficacité de la réponse immunitaire initiale entraîne une amplification de la réponse inflammatoire, responsable d'une aggravation clinique chez certains patients, qui survient autour de huit jours après l'apparition des symptômes, jusqu'à l'apparition d'un syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA) et d'une défaillance multi-viscérale, et s'accompagne de plusieurs signes d'hyperactivation du système immunitaire [26].

➤ **Hypersécrétion cytokinique**

Des taux élevés de cytokines circulantes ont été rapportés chez les patients atteints de COVID-19 sévère (IL2, IL6, IL7, IL10, GSCF, IP10, MCP1, MIP1A, et TNFa). Plusieurs chimiokines sont également hyperproduites et peuvent expliquer l'infiltration pulmonaire inflammatoire observée chez les patients infectés (Figure 6), et parmi elles CXCL17 (capable de recruter les macrophages alvéolaires), CCL2 et CCL8 (associées au recrutement des polynucléaires neutrophiles), CCL7 (recrutant les monocytes) et CXCL9/CXCL16 (recrutant les lymphocytes T et NK) [27]. Les gènes de la voie de NF-kB semblent également être surexprimés chez les patients sévères, et s'associent à des taux élevés d'IL-6 et de TNF-a. Dans l'étude de Zhou et Al, des taux élevés

d'interleukine-6 circulante étaient statistiquement associés à l'apparition d'une forme sévère. Ces concentrations d'IL- 6 apparaissent cependant moins élevées que celles retrouvées dans les sepsis bactériens. En revanche, les taux d'IL-1beta active et d'IL17a circulants apparaissent peu élevés [27]. Cette hyperactivation de la voie NFkB pourrait être induite directement par la protéine S virale qui déclenche dans un modèle de culture cellulaire une sécrétion monocytaire d'IL-6 et de TNF-a NFkB-dépendante dans l'infection à SARS-CoV-1, possiblement par liaison au TLR4 monocytaire. La production de TNF-a semble également inductible par liaison de la protéine S à l'ACE2, responsable d'une activation de l'enzyme TACE (TNF-a converting enzyme) par la queue cytoplasmique de l'ACE2 [28]. D'autres hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cette hypersécrétion cytokinique, parmi lesquelles celle d'une hémophagocytose lympho-histiocytaire, qui s'expliquerait par une stimulation antigénique continue des cellules de l'immunité [28].

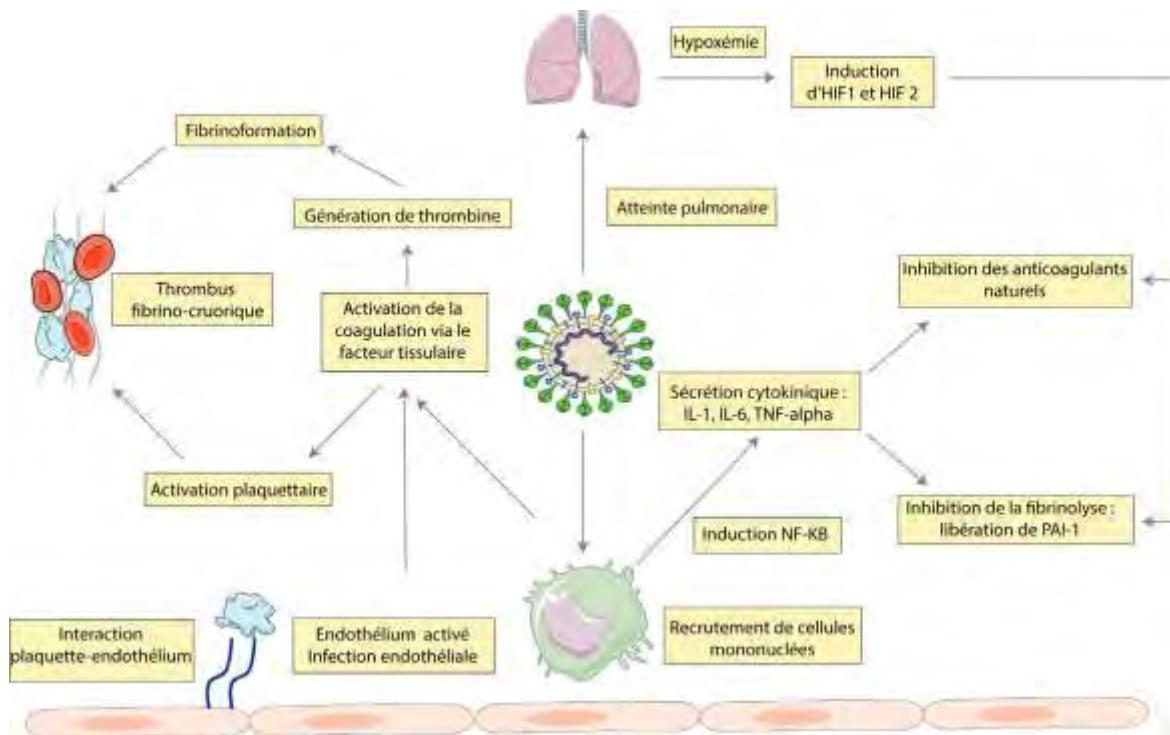


Figure 6 : Mécanismes de la coagulopathie de la COVID-19 [27].

I.9. Épidémiologie

❖ Contagiosité

Le taux de reproduction (R_0) est un indicateur qui apprécie le potentiel de contagiosité d'un agent infectieux. C'est le nombre moyen de sujets auxquels un malade risque de transmettre la maladie dans une population non immunisée contre le virus. Si le R_0 est supérieur à 1, alors la maladie tend à s'étendre d'elle-même en l'absence d'action. Des études supposent que le risque de contamination est plus important les premiers jours d'apparition des signes cliniques et pourrait persister plus de trois semaines [29].

❖ Réservoir

Plusieurs études ont suggéré que la chauve-souris pourrait être le réservoir potentiel du SARS-CoV-2. Les chauves-souris sont le réservoir naturel d'une grande variété de CoV, y compris les virus de type SARS-CoV et de type MERS-CoV [30].

❖ Transmission

Actuellement, il est admis que la transmission interhumaine est la principale voie de transmission [29]. Le virus peut pénétrer dans l'organisme par contact avec les yeux, nez, bouche avec des mains contaminées, par inhalation de gouttelettes/sécrétions d'un malade, ou en cas de contact avec des surfaces infectées. Jusqu'à présent, la transmission verticale n'a pas été confirmée, cependant plusieurs cas de transmission postnatale ont été rapportés. Par ailleurs, l'isolement d'ARN viral dans le sang et les selles a évoqué la possibilité d'une contamination sanguine ou oro-fécale qui n'a toutefois pas été démontrée à ce jour [31]. La contamination par la muqueuse oculaire pourrait être possible [29]. Une étude réalisée à l'hôpital de Zhongnan de l'université de Wuhan a montré que 29 % du personnel médical et 12,3 % des agents de sécurité ont attrapé le Covid-19 en milieu hospitalier.

❖ La période d'incubation

C'est l'intervalle entre la date d'un premier contact potentiel avec un patient suspect ou confirmé de Covid-19 et la date d'apparition des signes cliniques, notion importante pour déterminer la durée de l'isolement afin de contrôler la propagation de l'infection. La période d'incubation varie de deux à quatorze jours (médiane cinq jours). L'étude de Guan et al., réalisée sur un large échantillon, a suggéré une moyenne de trois jours, avec une extrême arrivant à 24 jours [31].

❖ Âge et sexe

La majorité des patients atteints de Covid-19 sont des hommes adultes, de moyennes d'âge de 55,5 ans, 49 ans et 56 ans [30-33]. Les sujets âgés ne représentaient que 10,1 % ; 14,6 % et 15,1 % des malades. L'atteinte des enfants est moins fréquente et moins grave, néanmoins des auteurs ont décrit l'atteinte des nourrissons moins d'un mois [31].

❖ Facteurs de risque

De nombreuses études ont montré que la plupart des patients infectés par le Sars-Cov-2 souffraient de pathologies chroniques, à savoir les maladies cardio-vasculaires et cérébro-vasculaires. L'hypertension et le diabète constituent également des facteurs de risque [33], tout comme l'âge > 65 ans et l'obésité, IMC > 30 kg/m² [34].

I.10. Diagnostic Biologique

I.10.1. Prélèvements

Les échantillons des voies respiratoires supérieures (écouillon pharyngien, cotons nasaux, sécrétions rhinopharyngiennes), les échantillons des voies respiratoires inférieures (expectorations, sécrétions des voies respiratoires, fluide de lavage broncho-alvéolaire), sang, matières fécales, urine et sécrétions conjonctivales peuvent être utilisés. Les expectorations et autres échantillons des voies respiratoires inférieures contiennent une haute teneur en acides nucléiques et doivent être collectés en priorité. Le SARS-CoV-2 prolifère de préférence dans les cellules alvéolaires de type II et les pics de pertes virales apparaissent 3 à 5 jours après la déclaration de la maladie [29].

I.10.2. Détection de l'acide nucléique

Le test d'acide nucléique constitue la méthode de première intention pour le diagnostic de l'infection au SARS-CoV-2. Les échantillons sont prétraités, et le virus est lysé pour extraire les acides nucléiques. Les trois gènes spécifiques du SARS-CoV-2, c'est à dire les gènes de la phase ouverte de lecture 1a/b (ORF1a/b - Open Reading Frame), protéine de nucléocapside (N), et protéine d'enveloppe (E), sont alors amplifiés par technique de RT-PCR quantitative en temps réel. Les gènes amplifiés sont détectés par l'intensité de la fluorescence. Les critères d'évaluation d'un test d'acide nucléique positif sont : Le gène ORF1a/b est positif, et/ou le gène N/ le gène E sont positifs [33].

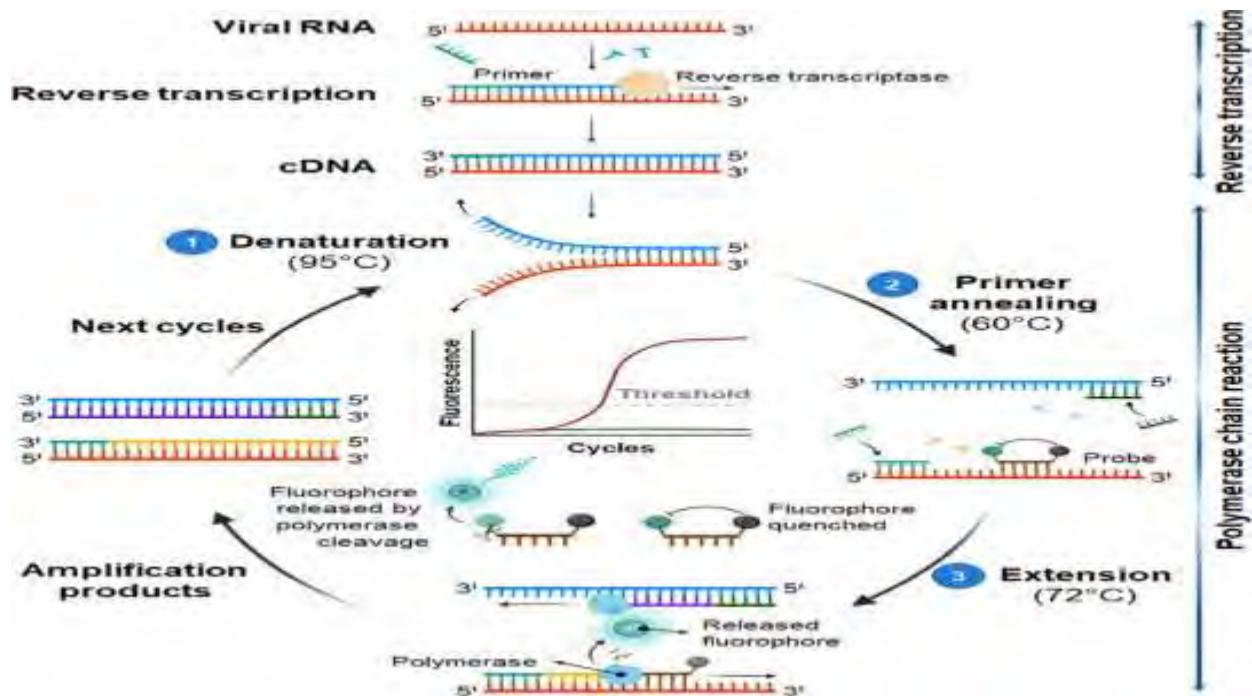


Figure 7 : Procédure de dosage RT-PCR [46]

I.10.3. Isolement et culture du virus

La culture du virus doit être effectuée dans un laboratoire doté d'un niveau 3 de biosécurité qualifié (BSL-3). Le processus est brièvement décrit comme suit : Des échantillons frais d'expectorations, de matières fécales, etc. du patient sont obtenus et inoculés sur des cellules Vero-E6 pour cultiver le virus. L'effet cytopathique (CPE) est observé après 96 heures. La détection de l'acide nucléique viral dans le milieu de culture est une culture positive. Mesure du titre du virus : Après avoir dilué la concentration du virus par un facteur de 10 en série, les TCID₅₀ est déterminé par la méthode micro-cytopathique. Autrement, la viabilité virale est déterminée par l'unité de formation de plaques (PFU) [43].

I.10.4. Détection d'anticorps de sérum

Des anticorps spécifiques sont produits après l'infection au SARS-CoV-2. Les méthodes de détermination par les anticorps de sérum incluent l'immunochromatographie, ELISA, les immuno-essais par chimiluminescence, etc. La présence d'IgM spécifiques, ou un titre d'anticorps IgG spécifique dans

la phase de récupération ≥ 4 fois plus élevé que dans la phase aigüe, peuvent être utilisés comme critères de diagnostic pour les patients suspects présentant une détection d'acide nucléique négative. Pendant les contrôles de suivi, les IgM sont détectables 10 jours après l'apparition des symptômes et les IgG 12 jours après l'apparition des symptômes. La charge virale décroît graduellement avec l'augmentation des niveaux d'anticorps de sérum. [44]

I.10.5. Diagnostic paraclinique

L'imagerie thoracique est d'une grande valeur dans le diagnostic de COVID-19, la surveillance de l'efficacité thérapeutique et l'évaluation avant la sortie des patients. Le scanner thoracique à haute résolution est hautement préférable. Les radiographies thoraciques portables sont utiles pour les patients gravement malades qui sont immobiles [44].

CHAPITRE II : PLACE DES TESTS SEROLOGIQUES DANS LE DIAGNOSTIC DE LA COVID-19

II.1. Définition

La sérologie permet la mesure qualitative ou semi-quantitative (titrage) de la production d'anticorps produits par l'organisme contre le virus, de déterminer si une personne a produit des anticorps en réponse à une infection par le Sars-Cov-2. La sérologie peut être réalisée au moyen de tests automatisables (de type enzyme Linked Immunosorbent assay (ELISA) par exemple) ou de tests unitaires rapides (généralement immunochromatographiques). Seuls les tests ELISA peuvent être qualitatifs ou semi-quantitatifs, les tests unitaires étant uniquement qualitatifs [37]. Depuis l'avènement de la pandémie de nombreux tests sérologiques sont proposés cependant leurs utilisations comme outil épidémiologique dépendent de leurs performances (sensibilité, spécificité).

II.2. Cinétique des anticorps

II.2.1. Évolution des anticorps sériques

L'infection par le Sars-Cov-2 entraîne une stimulation de la réponse immunitaire à médiation humorale. Dans la phase précoce de la maladie, les anticorps IgM commencent à apparaître, de manière inconstante, dans les 5 à 7 premiers jours suivant l'apparition des symptômes avec un temps moyen de séroconversion de 10 à 11 jours. Ils sont habituellement bien détectables après 15 jours, avec un taux de séroconversion proche de 100%, mais ils diminuent ensuite assez rapidement pour disparaître après 6 à 7 semaines (notons qu'au 15ème jour post-infection, le taux de positivité de la RT-qPCR est de moins de 50%). Les IgG sont généralement détectables plus tardivement, habituellement bien détectables 15 jours après le début de l'infection, et leur taux s'accroît progressivement jusqu'à la 5ème ou 6ème semaine après début des symptômes (**Figure 9**) [38].

Les données sur la séroconversion dans les cas asymptomatiques et modérément symptomatiques sont peu nombreuses car ces types de patients ne font que très rarement l'objet de tests sérologiques. Le titre en anticorps est très variable d'un patient à l'autre : les patients d'âge moyen ou très âgés ont des taux plasmatiques significativement plus élevés que les patients jeunes. Le taux d'anticorps est généralement élevé chez les patients ayant présenté un COVID sévère mais leur caractère neutralisant n'est pas fréquemment évalué [38].

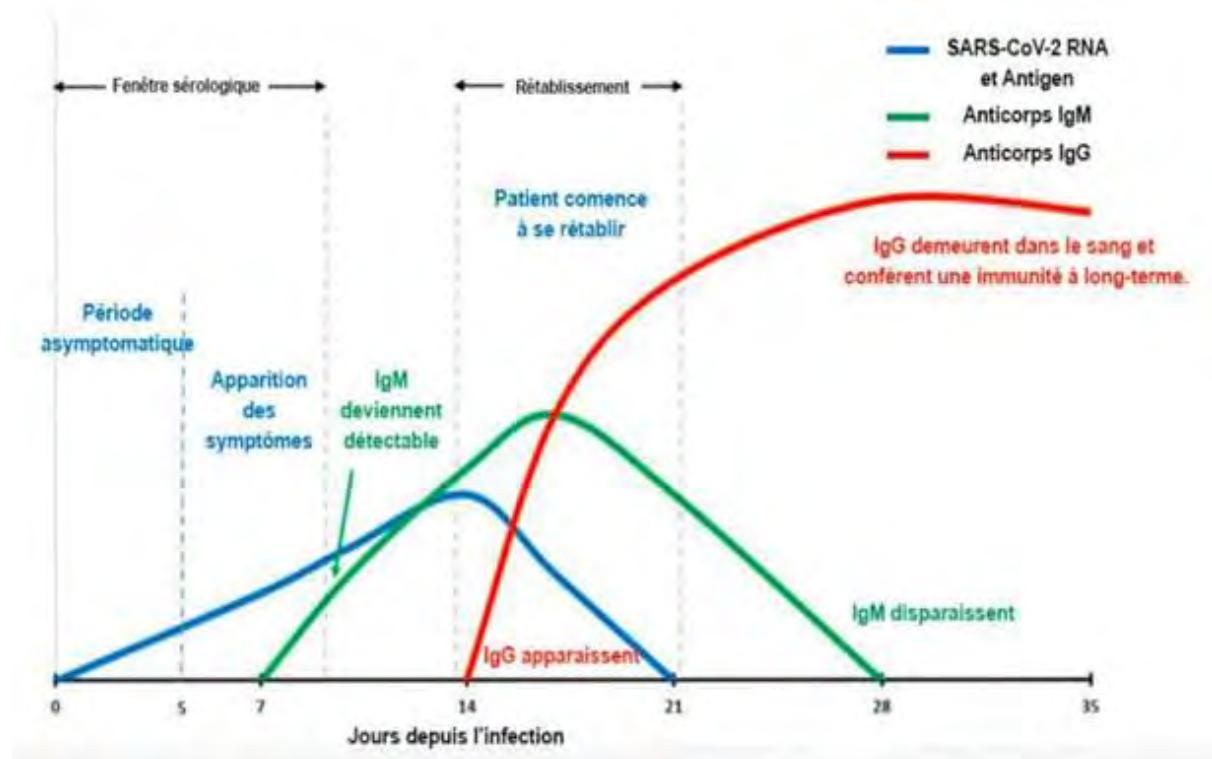


Figure 8 : Courbes de cinétique des anticorps par rapport aux symptômes cliniques [47]

II.2.2. Puissance et persistance de la réaction immunitaire

Chez certains patients, aucun anticorps n'est détecté, justifiant l'hypothèse que l'immunité anti-SARS-CoV-2 sera de courte durée, et que cette faiblesse apparente de la réponse immunitaire sera associée à un risque réel de réinfections, mais c'est sans compter sur le rôle probable de l'immunité

mucosale et cellulaire dans la réponse globale anti-SARS-CoV-2 de l'organisme.

Il est intéressant de noter qu'aucune réactivité croisée n'est rapportée entre les anticorps anti-SARS-CoV-2 et les autres types de coronavirus responsables de rhumes banals. Il est également important de noter qu'en raison d'un recul insuffisant, la durée persistance des anticorps après le COVID est actuellement inconnue. Aucune corrélation n'a pu être établie entre les taux d'anticorps et la clairance virale [38].

II.3. Les tests sérologiques

La sérologie peut être réalisée au moyen de tests automatisables (de type enzyme Linked Immunosorbent assay (ELISA) par exemple) ou de tests unitaires rapides (généralement immunochromatographiques).

II.3.1. les Tests automatisables Elisa (*enzyme-linked immunosorbent assay*)

C'est une technique immuno-enzymatique de détection basée sur une réaction antigène-anticorp grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée sur l'anticorps et/ou l'antigène. L'utilisation d'anticorps monoclonaux rend la détection spécifique, la réalisation d'une gamme en parallèle (droite de référence réalisée par des séries de dilutions successives du contrôle positif) permet de quantifier les anticorps du patient présents dans le sang. [39].la technique Elisa comprend plusieurs étapes (Figure10):

- ❖ Antigène spécifique du virus SARS-CoV-2 (la protéine N contenue dans la nucléocapside virale ou le récepteur de liaison du virus dit RBD (*Receptor Binding Domain*) est fixé sur une plaque
- ❖ Les anticorps présents dans l'échantillon de plasma du patient vont se

fixer spécifiquement sur l'antigène [40].

- ❖ Un anticorps de détection va ensuite fixer les anticorps humains à doser. Ces anticorps de détection sont couplés à une enzyme qui en présence de son substrat le transforme en produit de réaction détectable et mesurable grâce à l'apparition d'une coloration. L'intensité de celle-ci est proportionnelle à la quantité d'enzyme présent et donc à la concentration d'anticorps recherché [40].

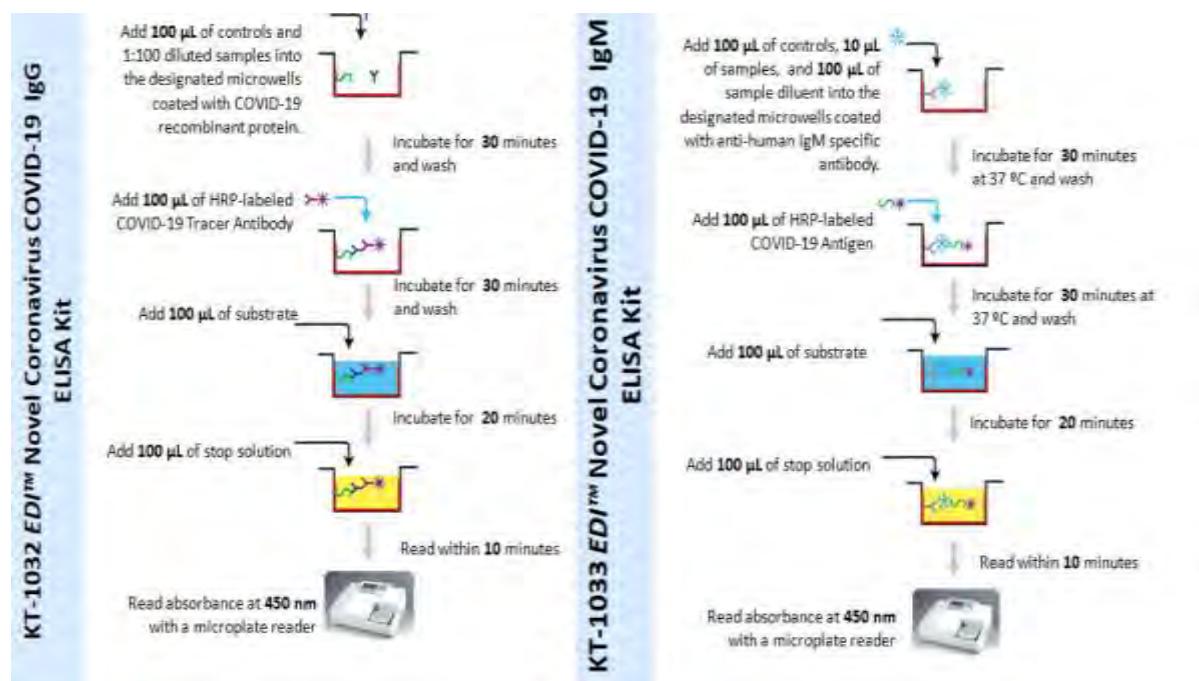


Figure 9 : Principe de la technique ELISA pour le dosage des IgM/IgG [48]

II.3.2. Les tests sérologiques de diagnostic rapide (TDR)

Ce sont des tests qui reposent sur le principe d'immunochromatographie pour la détection qualitative des anticorps IgG / IgM anti SARS-CoV-2 dans les échantillons de sang total, de sérum ou de plasma humain. Les tests utilisent des anticorps anti IgM humaines (ligne test IgM), des anticorps anti IgG humaines (ligne test IgG) et des IgG de lapin (ligne contrôle (C)) immobilisés sur une bandelette de nitrocellulose. Le Conjugué (anticorps recombinants de COVID-19 marqué à l'or colloïdal) est souvent intégré à la bandelette. Lorsque

l'échantillon est ajouté dans le puits échantillon (S) puis le tampon dans le puits tampon (B), les anticorps IgM et/ou IgG, s'ils sont présents, se lient aux conjugués COVID-19, formant des complexes anticorps-anticorps [41].

Ces complexes migrent à travers la membrane de nitrocellulose par capillarité. Lorsque les complexes rencontrent la ligne de l'anticorps immobilisé correspondant (anticorps anti IgM humaines et/ou anticorps anti IgG humaines), les complexes sont piégés et forment une bande de couleur bordeaux qui confirme la réactivité du test. L'absence de bande colorée dans la région test indique un résultat négatif. Pour servir de contrôle de procédure, la ligne colorée de la région contrôle passera toujours du bleu au rouge, indiquant qu'un volume d'échantillon suffisant a été utilisé et que la migration sur la membrane a été effectuée (Figure 11) [41].

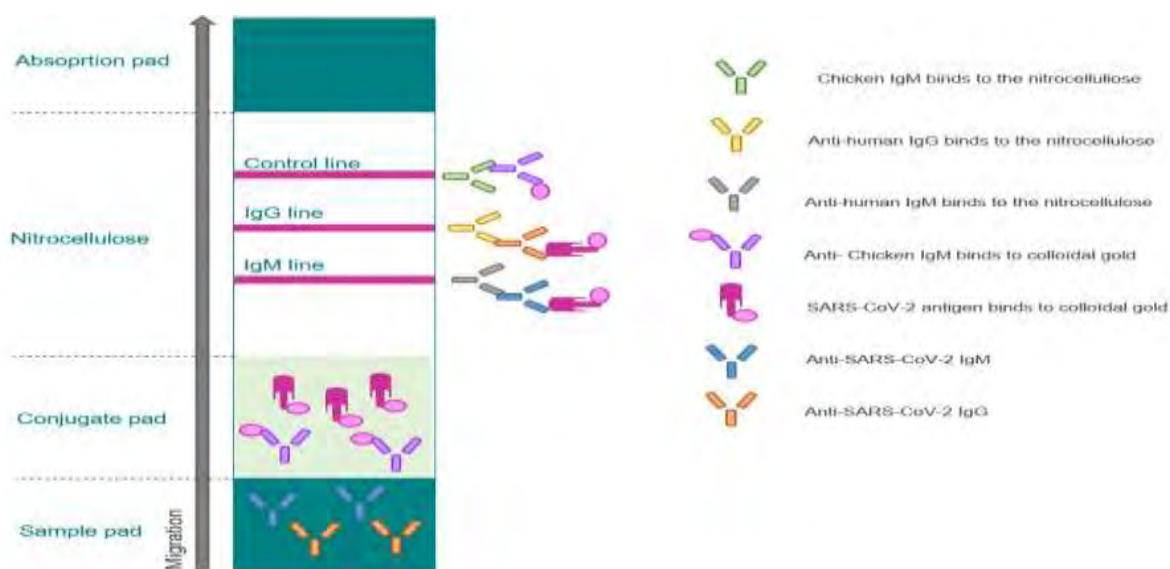


Figure 10 : Test Immunochromatographique COVID-19 sur bandelette de nitrocellulose [49]

II.3.3. Les tests rapides de détection des antigènes du virus sars-cov-2

La plupart des TDR-Ag destinés au diagnostic de la COVID-19 reposent sur une méthode d'immunodétection de type « sandwich » et se présentent sous forme

de dispositifs à flux latéral simples d'utilisation, comme ceux qui sont couramment employés pour le dépistage du VIH, du paludisme et de la grippe. Les TDR-Ag sont généralement constitués d'une cassette en plastique avec des puits pour l'échantillon et le tampon, une membrane de nitrocellulose, une ligne de test à laquelle sont fixés des anticorps spécifiques pour la détection des complexes anticorps-anticorps cibles conjugués et une ligne témoin à laquelle sont fixés des anticorps spécifiques pour la détection des anticorps conjugués [41] (Figure 12).

Dans le cas du SARS-CoV-2, le déterminant antigénique le plus souvent ciblé par les TDR est la nucléocapside du virus, cette protéine étant privilégiée en raison de son abondance relative. En règle générale, tout l'équipement nécessaire à la réalisation du test, y compris le matériel de prélèvement des échantillons, est fourni dans le kit commercial, à l'exception d'un minuteur [41]. A ce titre c'est test de screening rapide, qui constitue une alternative à la RT-qPCR, et permet de prendre rapidement des décisions cliniques et de quarantaine. Ce test a une sensibilité de <60% et une spécificité de 99.5%[37]. Il est positif chez les patients présentant une charge virale élevée (correspondant à un Ct de < 25). Sa faible sensibilité constitue donc un handicap majeur pour une utilisation visant à détecter tous les cas COVID-suspects.

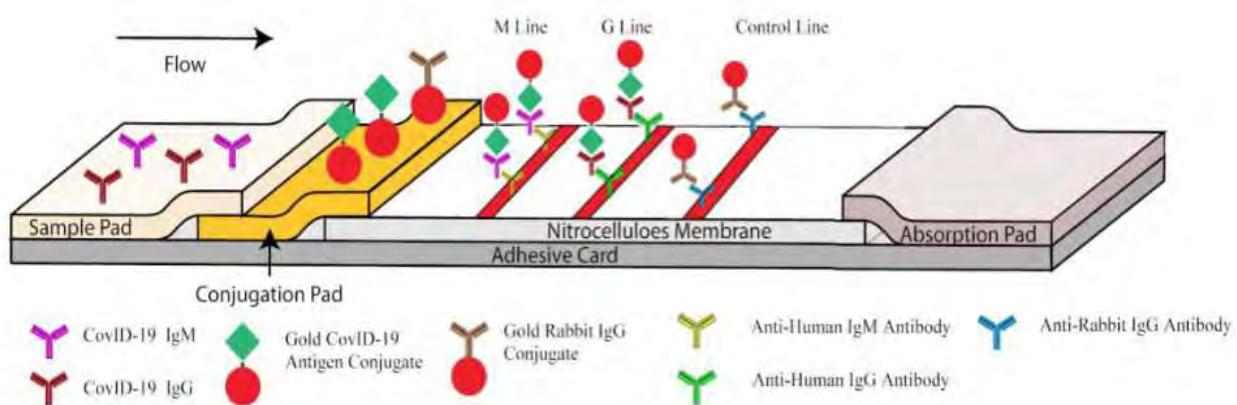


Figure 11 : Principe de test rapide de détection des Antigènes [50].

II.3.4. Autres tests

❖ **Test rapide d'orientation diagnostique (TROD)**

Lorsqu'il est réalisé en dehors d'un LBM par un professionnel de santé ou par du personnel ayant reçu une formation adaptée et relevant de structures de prévention et associatives ou du service de santé des armées.

❖ **Autotest:** test rapide de dépistage pour lequel le prélèvement, la lecture et l'interprétation des résultats sont réalisés par l'individu lui même, dans un environnement domestique.

II.4. Prélèvements

Les tests sérologiques permettent la détection qualitative et/ou quantitative des anticorps IgG / IgM anti SARS-CoV-2 dans les échantillons de sang total, de sérum ou de plasma humain .Le prélèvement sanguin se fait au niveau du pli du coude par ponction veineuse. Les échantillons de sang sont mis dans un emballage classique après désinfection des tubes. Le délai d'acheminement d'un échantillon vers le laboratoire est de 24 à 48H.

II.5. Indications des tests sérologiques

Dans l'évaluation des tests sérologiques en contexte de COVID-19, il est nécessaire, pour déterminer l'utilité collective d'un dépistage systématique dans une population donnée, qu'au préalable la prévalence attendue dans une population considérée soit estimée grâce à la surveillance épidémiologique et de prendre en compte les performances du test, notamment sa spécificité. Par définition, la Valeur Prédictive Positive (VPP) est très dépendante de la prévalence par définition. Ainsi, même en disposant d'un test sérologique rapide performant respectant les seuils de sensibilité (Se) et spécificité (Spé) cliniques préalablement définis par la **Haute Autorité Sanitaire (HAS)** dans son cahier des charges (soient Se = 90 % et Sp = 98 %), la VPP sera faible en situation de

faible prévalence de la maladie COVID-19 rendant l'intérêt de tester systématiquement un groupe de sujets donné inexistant.

Les différentes indications des tests sérologiques sont en fonction de la présentation clinique (patient asymptomatique, symptomatique sans signes de gravité ou avec des signes de gravité) pour lesquelles sont définis:

1. la population cible du test et les raisons pour lesquelles un diagnostic ou un dépistage systématique sérologique serait pertinent;
2. la finalité du test (diagnostic initial, diagnostic de rattrapage, diagnostic étiologique à distance, santé publique);
3. la séquence des tests, ainsi que la temporalité de réalisation;
4. les isotypes d'immunoglobulines à rechercher.

Pour les tests de diagnostic rapide (TDR), les indications sont les mêmes que celles des tests automatisables (ELISA) à savoir :

- Enquêtes séro-épidémiologiques dans le cadre de la surveillance épidémiologique
- Diagnostic initial de patients symptomatiques graves hospitalisés, si tableau clinique ou scano-graphique évocateur et RT-PCR négative
- Diagnostic de rattrapage de patients symptomatiques graves hospitalisés mais n'ayant pas été en mesure de réaliser un test RT-PCR avant sept jours
- Diagnostic initial de patients symptomatiques sans signe de gravité suivis en ville si tableau clinique évocateur et test RT-PCR négatif
- Diagnostic de rattrapage chez des patients symptomatiques avec suspicion clinique sans signe de gravité mais n'ayant pas été en mesure de réaliser un test RT-PCR avant sept jours
- Diagnostic étiologique à distance chez des patients symptomatiques sans signe de gravité diagnostiqués cliniquement mais n'ayant pas fait l'objet d'une RT-PCR
- Détection d'anticorps chez les professionnels soignants non

symptomatiques lors de dépistage et détection de personne-contact par RT-PCR selon recommandations en vigueur après une RT-PCR négative, uniquement à titre individuel sur prescription médicale.

- Détection d'anticorps chez les personnels d'hébergements collectifs non symptomatiques lors de dépistage et détection de personne-contact par RT-PCR selon recommandations en vigueur après une RT-PCR négative, uniquement à titre individuel sur prescription médicale [51].

**DEUXIEME PARTIE : TRAVAIL
EXPERIMENTAL**

I. MATERIEL ET METHODES

I.1. Type et cadre d'étude

Il s'agissait d'une étude prospective analytique, d'une durée de deux mois allant du 1^{er} Octobre 2020 au 1^{er} Décembre 2020. Le recrutement des patients s'était déroulé au niveau du centre de traitement épidémiologique (CTE) du CHNU de Fann et les tests biologiques ont été réalisés au laboratoire du CTE.

I.2. Population d'étude

Ce travail avait porté sur des patients infectés par le Sars-Cov-2 suivis au niveau du CTE, et de sérums de patients présumés négatifs:

❖ **Critères d'inclusion** : ont été inclus dans cette étude

- Les patients chez qui le diagnostic de la covid-19 était évoqué sur la base des arguments cliniques et biologiques (RT-PCR positive)
- Les Sérums de patients présumés **négatifs** (absence présumée d'Ig SARS-COV-2) et conservés depuis au moins deux ans (banque de sérums du laboratoire).
- Les patients déclarés guéris (RT-PCR négative)

❖ **Critères de non-inclusion** : l'étude ne concernait pas les patients déclarés suspects (résultats RT-PCR douteux) en observation au niveau du CTE

I.3. Prélèvements

Les prélèvements sanguins ont été réalisés chez les sujets, au repos et par ponction veineuse au niveau du pli du coude avec garrot. Le sang était recueilli dans un Tube Sec, centrifugé à 3500 tours/5min.

I.4. Paramètres étudiés

La recherche qualitative des anticorps IgG et/ou IgM anti Sars-Cov-2 dans le sérum.

I.5. Méthodes

I.5.1. Composition des TDR

I.5.1.1. kit SARS-CoV-2 Antibody Test (Fabricant: Wondfo®)

Le test Wondfo SARS-CoV-2 Antibody Test est basé sur le principe du dosage immunologique de capture pour la détermination des anticorps totaux (**non discriminatif**) anti-SARS-CoV-2 IgM / IgG dans le sang total humain et l'échantillon de plasma. Le kit se présente sous forme d'une boîte (**Figure 12**), qui comprend :

- ❖ **20 Tests unitaires (cassette)** en sachet aluminium avec dessicant
- ❖ **20** pipettes de transfert jetables
- ❖ **Flacon** compte-gouttes de solution buffer (1*6ml)
- ❖ **1 notice** qui présente le test et donne les instructions d'utilisation



Figure 12 : Boîte de SARS-CoV-2 Antibody Test (Fabricant: Wondfo®)

I.5.1.2. kit 2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device (Fabricant: REALY TECH)

Le test 2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device est un test immunochromatographique basé sur le principe du dosage immunologique de capture pour la détermination des anticorps anti-SARS-CoV-2 **IgM et/ou IgG** dans le sang total humain et /ou Sérum/plasma. Le kit se présente sous forme d'une boîte (**Figure 13**), qui comprend :

- ❖ Un Test unitaires (cassette) en sachet aluminium
- ❖ Une pipette de transfert jetable (**10ul**)
- ❖ Flacon compte-gouttes de solution buffer
- ❖ une lancette (si prélèvement au niveau de la pulpe du doigt)
- ❖ un tampon alcool 70% (Alcohol Pad)
- ❖ 1 notice qui présente le test et donne les instructions d'utilisation



Figure 13 : Composition du kit 2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device (Fabricant: REALY TECH)

I.5.2. Réalisation du test

Les tests ont été réalisés sur des échantillons de sérum en suivant les étapes ci-dessous :

- Porter des gants
- Ramener les échantillons de sérum à la température ambiante
- Ouvrir le sachet de protection du TDR et sortir la cassette en vérifiant sa validité
- Placer la cassette sur une surface plate et propre
- Identifier la cassette avec le numéro de l'échantillon

- Ajouter la quantité (ul) de sérum selon le fabricant dans le puits d'échantillon (**S**) de la cassette de test, puis ajouter une quantité de tampon d'échantillon dans le puits tampon immédiatement.
- Jeter la pipette dans le conteneur destiné aux déchets biologiques dangereux (DASRI).
- Déclencher le chronomètre et suivre le test à partir de cet instant.
- Laisser incuber à température ambiante et lire les résultats au bout de **15 mn** à la température ambiante entre 15-30°C (ne pas dépasser 20mn).

I.5.3. Interprétation des résultats

Les lectures des tests réalisés ont été effectuées par deux biologistes de manière indépendante avant confrontation. Tous les résultats ont été validés par le biologiste responsable de l'évaluation des tests.

L'interprétation des résultats se fait comme suit (**Figure 14 et 15**) :

- ❖ **NÉGATIF:** Si un seul trait apparaît au niveau de la zone contrôle (C); Aucune bande de couleur n'apparaît dans la zone de test.
- ❖ **IgM/IgG POSITIF:** Présence de la bande C et d'une bande test (T). Le résultat traduit la présence d'anticorps anti- SARS-COV-2.
- ❖ **INVALIDE:** Absence de la bande C.

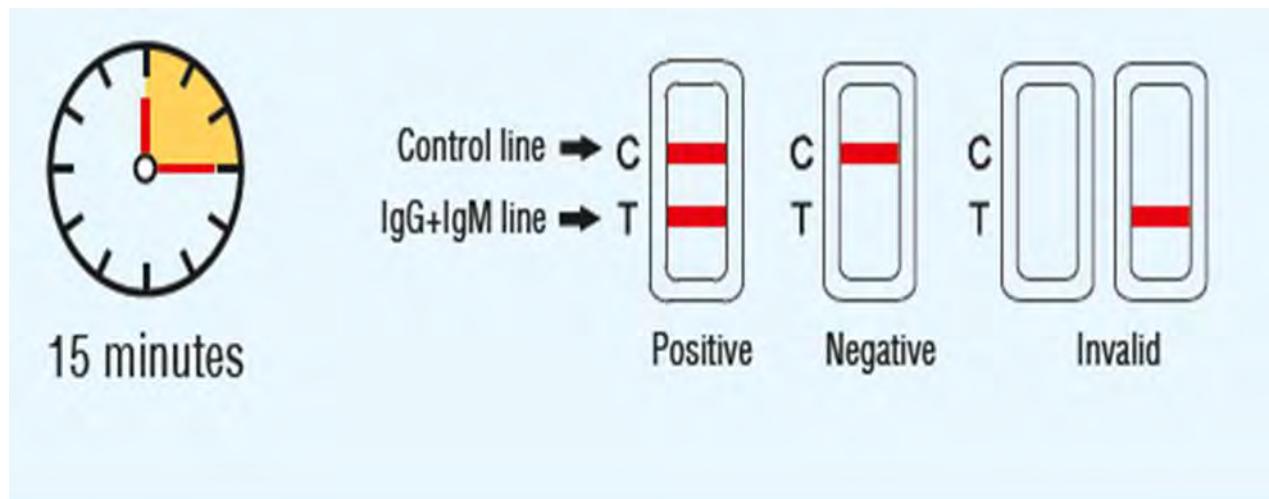


Figure 14 : Lecture après 15 minutes et interprétation des résultats de kit SARS-CoV-2 Antibody Test (Fabricant: Wondfo)

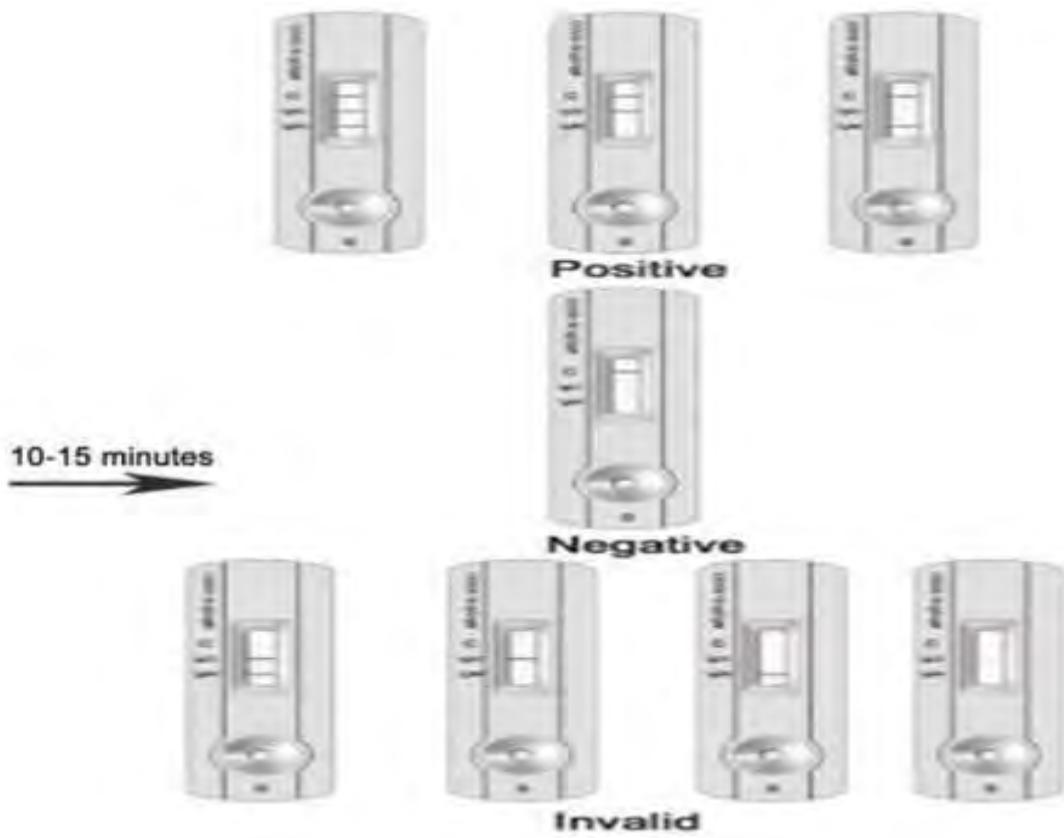


Figure 15 : Lecture après 15 minutes et interprétation des résultats de 2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device

I.5.4. Exploitation statistique

Le logiciel Excel a été utilisé pour le recueil et l'analyse des données.

Les performances des tests ont été évaluées sur la base du calcul :

- ❖ **De la sensibilité clinique:** La probabilité d'avoir un test positif chez les malades, c'est-à-dire pour les tests sérologiques en contexte COVID-19 par la capacité à détecter les Ac (IgM et/ou IgG) dirigés contre le virus SARS-CoV-2, sur des sérum de patients préalablement connus pour être atteints ou guéris du COVID-19

$$\text{Sensibilité} = (\text{VP}/(\text{VP}+\text{FN})) \times 100 \quad \text{VP} = \text{vrais positifs}; \text{FN} = \text{Faux négatifs}$$

- ❖ **De la Spécificité clinique:** la probabilité d'avoir un test négatif chez les non-malades, c'est-à-dire pour les tests sérologiques en contexte COVID-19 s'assurer que le test ne détecte pas d'Ac (IgM et/ou IgG) dirigés contre le virus SARS-CoV-2, sur des sérum de Témoins négatifs.

$$\text{Spécificité} = (\text{VN}/(\text{VN}+\text{FP})) \times 100 \quad \text{VN} = \text{vrais négatifs}; \text{FP} = \text{faux positifs}$$

RESULTATS

II. RESULTATS

II.1. Caractéristiques générales des échantillons testés

Un total de **200 échantillons** connus (négatifs et positifs) a été testé pour chaque kits de test de diagnostic rapide (TDR) .Les résultats ont été considérés comme valides suite à l'apparition de la bande contrôle. Le **Tableau I** présente les caractéristiques des différents échantillons testés.

Tableau I : Échantillons testés

Types d'échantillons	Nombre
Témoins négatifs	75
Patients COVID-19 positif	50
Patients guéris	75
Total	200

II.2. Evaluation de la spécificité clinique

Les performances des TDR calculées sur la base des résultats obtenus chez **75 témoins négatifs** font ressortir une spécificité globale de **100%** pour la détection des Ig anti Sars-Cov-2 (IgG et/ou IgM) (**Tableau II**).

Tableau II : Résultats des tests sérologiques chez les témoins négatifs

Tests sérologiques	FP	VN	Spécificité
Test SARS-CoV-2	0	75	100%
Antibody			
2019-nCOV/COVID-19	0	75	100%
IgG/IgM Rapid Test			

FP=Faux positif ; **VN**=Vrais négatifs

II.3. Evaluation de la sensibilité Clinique

II.3.1. 2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device

Les résultats de la performance révèlent une sensibilité globale de **92%** et **86,66%** respectivement chez les patients infectés par le Sars-Cov-2 et les patients guéris (**Tableau III**). Lorsque la répartition a été faite en fonction du type d'Ig ; les résultats obtenus font ressortir, chez les patients infectés (covid+), une sensibilité de **92%** et **80%** respectivement pour IgG anti- SARS-COV-2 et IgM anti- SARS-COV-2. Chez les patients guéris, les résultats de l'évaluation font ressortir une sensibilité clinique de **82,66%** et **50,66%** respectivement pour IgG anti- SARS-COV-2 et IgM anti- SARS-COV-2 (**Tableau III**).

Tableau III : Tableau de contingence des tests sérologiques réalisés chez les patients covid positifs (RT-PCR positive) et les patients guéris

IgG et/ou IgM anti Sars-Cov-2		VP	FN	Sensibilité (%)
	Malades (RT-PCR+)	46	4	92%
	Guéris (RT-PCR-)	65	10	86,66%

VP : Vrais positifs FN : Faux négatifs

Sensibilité= $(VP \div VP+FN)$

Tableau IV : Tableau de contingence des tests sérologiques selon le type d'Ig

		VP	FN	Sensibilité
IgG anti SARS-COV-2	Covid +	46	4	92%
	Patients guéris	62	13	82,66%
IgM anti SARS-COV-2	Covid +	40	10	80%
	Patients guéris	38	37	50,66%

II.3.2. SARS-CoV-2 Antibody Test

Les résultats de l'évaluation de la performance du test SARS-CoV-2 Antibody révèlent une sensibilité globale de **88%**. Lorsque la répartition a été faite en fonction du groupe de sujets ; les résultats obtenus font ressortir, des sensibilités cliniques de **94%** et **84%** respectivement chez les malades et chez les sujets guéris (Tableau V).

Tableau V : Tableau de contingence des tests sérologiques réalisés chez les cas COVID positifs et guéris

		VP	FN	Sensibilité
IgG et/ou IgM anti SARS-COV-2	Malades et Guéris	110	15	88%
	Malades	47	3	94%
	Guéris	63	12	84%

DISCUSSION

COMMENTAIRE

L'infection à SARS-CoV-2, appelée COVID-19 est à l'origine de pneumonies potentiellement mortelles d'où l'intérêt d'un diagnostic positif précoce. La RT-PCR constitue la méthode de première intention pour le diagnostic de l'infection au SARS-CoV-2.

De nombreux tests sérologiques aux performances très variables sont proposés, il est nécessaire d'évaluer leurs performances afin de ne pas mésestimer la séroprévalence Covid-19. C'est dans ce contexte que nous nous sommes fixé comme objectif principal d'évaluer les performances de deux TDR destinés au diagnostic indirect de l'infection au SARS-CoV-2. Les tests Wondfo SARS-CoV-2 Antibody et kit 2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test se présentent sous forme de tests unitaires, qui détectent les anticorps (IgG et/ou IgM) anti SARSCOV-2. Ils sont faciles à réaliser et les résultats sont disponibles au bout de 15 minutes et sont faciles à interpréter. L'évaluation au niveau de notre laboratoire a retrouvé une excellente spécificité (**100%**). L'évaluation de la performance du TDR **2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device** a montré une sensibilité globale de 92% et 86,66% respectivement chez les patients infectés par le Sars-Cov-2 et les patients guéris.

Lorsque la répartition a été faite en fonction du type d'Ig ; les résultats obtenus font ressortir, chez les patients infectés (covid+), une sensibilité de 92% et 80% respectivement pour IgG anti- SARS-COV-2 et IgM anti- SARS-COV-2. Chez les patients guéris, les résultats de l'évaluation font ressortir une sensibilité clinique de 82,66% et 50,66% respectivement pour IgG anti- SARS-COV-2 et IgM anti- SARS-COV-2. La notice du fabricant indique sur un total de 557 échantillons positifs (RT-PCR positive) :

- **Une Spécificité de 99,31% et 97,58% respectivement pour IgG et IgM**
- **Une sensibilité de 86,94% et 83,21% respectivement pour IgG et IgM**

Les résultats de l'évaluation de la performance du test **SARS-CoV-2 Antibody** révèlent une sensibilité globale de **88%**. Lorsque la répartition a été faite en fonction du groupe de sujets ; les résultats obtenus font ressortir, des sensibilités cliniques de **94% et 84%** respectivement chez les malades et chez les sujets guéris, les résultats trouvés dans notre laboratoire sont similaires à ceux présentés dans la notice du fabricant indiquant une spécificité et une sensibilité globale respectivement de **99.57% et 86.43%**.

Les TDR sérologiques, basés sur la recherche d'anticorps ne peuvent être utilisés que dans un but diagnostique car l'apparition des marqueurs (anticorps), nécessite environ une semaine au minimum après l'apparition des symptômes, la présence d'IgM pourrait signer une infection récente tandis que les IgG marque une infection évolutive ou guérie.

La haute autorité de santé définit des critères de qualité et d'exigence vis-à-vis l'ensemble des tests sérologiques détectant les anticorps spécifiques dirigés contre le SARS-CoV-2 afin de faciliter leur développement et leur évaluation, elle 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 [53].

Ces deux tests bien que performants, n'atteignent pas le niveau de performance de la direction générale des laboratoires qui a défini la procédure d'autorisation de mise sur le marché au Sénégal des tests de diagnostic rapide de la COVID-19, les performances exigées pour les TDR immunologiques sont : une sensibilité supérieur ou égale à 90% et spécificité supérieur ou égale à 95% [52].

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 dans ce contexte que la direction générale des laboratoires du Sénégal a autorisé la mise sur le marché de ces deux tests.

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, dans l'espace européen, 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 [53].
- ❖ 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 [53].

CONCLUSION

Conclusion

Les tests sérologiques permettent la détection des anticorps (Ac) spécifiques 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 conséquent, 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.

Ces tests s'adaptent également à une utilisation ambulatoire en raison de sa facilité d'utilisation. L'évaluation de ce test sur un plus grand nombre de personnes asymptomatiques et à partir de sang total peut être nécessaire afin de confirmer nos résultats dans cette population.

L'analyse des résultats de notre population d'étude a montré que l'évaluation au niveau de notre laboratoire a retrouvé une excellente spécificité (100%) pour les deux tests. L'évaluation de la performance du **TDR 2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device** étant un test discriminatif de type d'Ig, a montré une sensibilité globale de 92% et 86,66% respectivement chez les patients infectés par le Sars-Cov-2 et les patients guéris. Tandis que le test **SARS-CoV-2 Antibody** qui est un test non discriminatif, révèle une sensibilité globale de **88%**.

Les résultats concernant les différents type d'anticorps (IgM/IgG) a montré que le TDR **2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device** présente chez les patients infectés (covid+), une sensibilité de 92% et 80% respectivement pour IgG anti- SARS-COV-2 et IgM anti- SARS-COV-2. Chez les patients guéris, les résultats de l'évaluation font ressortir une sensibilité clinique de 82,66% et 50,66% respectivement pour IgG anti-SARS-COV-2 et IgM anti-SARS-COV-2.

Les performances globalement satisfaisantes de ces tests TDR en font un outil de choix pour la réalisation de dépistages de masse dans des populations à faible prévalence (aéroports à l'arrivée, universités, entreprises, collectivités, etc.), qui échappent aujourd’hui au dépistage par PCR ou qui engorgent inutilement les laboratoires de biologie médicale. Leur rapidité et leur simplicité de mise en œuvre permettent une répétabilité des tests au sein de populations données, cruciale dans un contexte de pandémie rapidement évolutive.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

1. Siddiqi HK, Mehra MR.

COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: a clinical-therapeutic staging proposal. *J Heart Lung Transplant* 2020;39(5):405–7.

2. Picot S, Peyron F, Vuillez JP, Polack B, et al.

Chloroquine inhibits tumor necrosis factor production by human macrophages in vitro. *J Infect Dis* 1991;164:830.

3. Haga S, Yamamoto N, Nakai-Murakami C, Osawa Y, et al.

Modulation of TNF-alpha-converting enzyme by the spike protein of SARS-CoV and ACE2 induces TNF-alpha production and facilitates viral entry. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105:7809–14.

4. Chae JJ, Wood G, Richard K, Jaffe H, et al.

The familial Mediterranean fever protein, pyrin, is cleaved by caspase-1 and activates NF- kappaB through its N-terminal fragment. *Blood* 2008;112:1794–803.

5. Kuzmich NN, Sivak KV, Chubarev VN, Porozov YB, et al.

TLR4 signaling pathway modulators as potential therapeutics in inflammation and sepsis. *Vaccines* 2017;5(4):34.

6. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, et al.

A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 2020;579:259–65.

7. Wilde AH, Snijder EJ, Kikkert M, van Hemert MJ.

Host factors in coronavirus replication. *Curr Top Microbiol Immunol* 2018;419:1–42.

8. ClinisSciences, SARS-CoV-2 - Antigènes (Protéines et peptides) pour la recherche et le développement, Disponible sur :

<https://www.clinisSciences.com/achat/cat-sars-cov-2-antigenes-proteines-5102.html>

9. ClinisSciences, SARS-CoV-2 - Antigènes (Protéines et peptides) pour la recherche et le développement, Disponible sur :

<https://www.clinisSciences.com/achat/cat-sars-cov-2-proteine-de-pointe-s-5134.html>

10 .CliniSciences, SARS-CoV-2 - Antigènes (Protéines et peptides) pour la recherche et le développement, Disponible sur :
<https://www.clinisciences.com/achat/cat-sars-cov-2-proteine-de-nucleocapside-5135.html>

11. CliniSciences, SARS-CoV-2 - Antigènes (Protéines et peptides) pour la recherche et le développement, Disponible sur :
<https://www.clinisciences.com/achat/cat-sars-cov-2-proteine-d-enveloppe-5138.html>

12. CliniSciences, SARS-CoV-2 - Antigènes (Protéines et peptides) pour la recherche et le développement, Disponible sur :
<https://www.clinisciences.com/achat/cat-sars-cov-2-helicase-proteine-h-5139.html>

13.CliniSciences, SARS-CoV-2 - Antigènes (Protéines et peptides) pour la recherche et le développement, Disponible sur :
<https://www.clinisciences.com/achat/cat-sars-cov-2-protease-de-type-papaine-5137.html>

14.Miriam Darnella, Kanta Subbaraob, Stephen Feinstonea, Deborah Taylor.
Inactivation of the coronavirus that induces severe acute respiratorysyndrome, SARS-CoV Journal of Virological Methods 121 (2004) 85–91

15.Hiroaki Kariwa, Nobuhiro Fujii , and Ikuo Takashima.
Inactivation ofSARS coronavirus by means of povidone-iodine, physical conditions, and chemical reagents Jpn. J. Vet. Res. 52 (3) : 105-112,2004

16.Alex Chin, Julie Chu, Mahen Perera, Kenrie Hui, et al
Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions March 27, 2020.

17. Aurélie PERTHUISON, Myriam REBEYROTTE et Nathalie FEUILLET
L’Institut Pasteur isole les souches du coronavirus 2019-nCoV détecté en France. Communiqué de presse 31.01.2020

18.Matthew Borok.
Le cycle viral de SARS-CoV-2. Institut Mondor de Recherche Biomédicale – Université Paris-Créteil (<http://arbre-des-connaissances-apsr.org/2020/05/29/le-cycle-viral-de-sars-cov-2/>)

19.Finlay BB, McFadden G.

Anti-immunology: evasion of the host immune system by bacterial and viral pathogens. *Cell* 2006;124:767–82.

20.Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, et al.

Immunology of COVID-19: current state of the science. *Immunity* 2020, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jimmuni.2020.05.002>.

21.Stetson DB, Medzhitov R.

Type I interferons in host defense. *Immunity* 2006;25:373–81.

22.Commins SP, Borish L, Steinke JW, Brown G.

Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125: S53–72.

23. Hu Y, Li W, Gao T, Cui Y, et al.

The severe acute respiratory syndrome coronavirus nucleocapsid inhibits type I interferon production by interfering with TRIM25-mediated RIG-I ubiquitination. *J Virol* 2017;91.

24.Wang C, Liu Z, Chen Z, Huang X, et al.

The establishment of reference sequence for SARS-CoV-2 and variation analysis. *J Med Virol* 2020.

25.Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F , et al.

Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020;323:1061–9.

26.Hadjadj J, Nader Yatim, Barnabei L, Corneau A, et al.

Impaired type I interferon activity and exacerbated inflammatory responses in severe Covid-19 patients

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.19.20068015v1>.

27.Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, et al.

COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet* 2020;395:1033–4.

28.Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, et al.

Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin Infect Dis* 2020, <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa248>.

29. Pan A, Liu L, Wang C, Tang G, et al.

Association of Public Health Interventions With the Epidemiology of the COVID-19 Outbreak in Wuhan, China. *JAMA*. 2020.

30. Van Doremale N, Bushmaker T, Stephen F, Morris DH, et al.

Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med*. 2020;382(16):1564-1567.

31. Tang X, Wu C, Li X, Song Y, et al.

On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *Natl Sci Rev*. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa036>.

32. Ren SY, Liu M, Wang WB, Hao YG, et al.

Stability and infectivity of coronaviruses in inanimate environments. *World J Clin Cases*. 2020;8(8):1391-1399.

33. He X, Lau EHY, Wu P, Liu D, et al.

Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nature Med*. 2020;26(5):672-675.

34. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, et al.

Presymptomatic SARS-CoV-2 infections and transmission in a skilled nursing facility. *N Engl J Med*. 2020 May 28;382(22):2081-2090. doi:10.1056/NEJMoa2008457.

35. ScienceNano, Coronavirus Covid-19,

Procedures 31/12/2020, Disponible sur :https://COVID-19.sciensano.be/sites/default/files/COVID19/COVID-19_procedure_hospitals_FR.pdf version du 8 mai 2020. 08 MAY 2020.

36. Vandenberg O.

Development and potential usefulness of the COVID-19 Ag Respi-Strip diagnostic assay in a pandemic context. *medRxiv*. 2020.

37. Okba NM

SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients. *medRxiv*. 2020.

38. Krutgen A,

Comparison of four new commercial serologic assays for determination of SARS-CoV-2 IgG. *J Clin Virol*. 2020; 104394.

39. Wilson ME.

Serologic Tests for SARS-CoV-2: First Steps on a Long Road. New Engl JMed Watch. 2020; Mar 31.

40. Notice d'utilisation COVID-PRESTO®

FR COVID-PRESTO®Test rapide COVID-19 IgG/IgM (sang total/sérum/plasma) – Cassette Réf. : TR-COV-001

41. Patricia M.N, Andreas Lasserre, Nadia Z.S, Sebil V, et al

Place des tests sérologiques dans la stratégie de prise en charge de la maladie COVID-19, HAS,mai 2020

42. V. Bonny.

La Revue de médecine interne 41 (2020) 375–389

43. Helena Florindo , Ron Kleiner, Daniella Vaskovich-K, Rita Acúrcio et al.

Immune-mediated approaches against COVID-19 pg 63, Nat Nanotechnol . 2020 Aug;15(8):630-645.

44. Adeel Afzal

Molecular diagnostic technologies for COVID-19: Limitations and challengesJournal of Advanced Research Volume 26, November 2020, Pages 149-159

45. Gustave Roussy,

COVID-19 Cancer campus Grand Paris, News 10avril 2020

46. Alexander Krüttgen .

Comparison of four new commercial serologic assays for determination of SARS-CoV-2 IgG. Journal of Clinical Virology. 2020;128:104394. Published 2020 Apr 22. doi:10.1016/2020.104394

47. Manuel d'Instruction pour le coffret de detection immunologique SARS-CoV-2IgM/IgG(Immunochromatographie)

https://www.clinisciences.com/file_fournisseur/0b24_sf20025.pdf

48. François Simon

Les Tests Virologiques du SARS-CoV-224 juillet 2020, Disponible sur : <https://www.imea.fr/article/sars-cov-2/les-tests-virologiques>

49. Patricia M. F, Andrea L, Nadia Z-S, Cédric C. et al

Place des tests sérologiques rapides (TDR, TROD, AUTOTESTS) dans la stratégie de prise en charge de la maladie COVID-19, HAS validé le 14 mai 2020

50. Liu Y, Han Y, Diao B, Ren F, et al.

Diagnostic Indexes of a Rapid IgG/IgM Combined Antibody Test for SARS-CoV-2. *Infectious Diseases (except HIV/AIDS)*; 2020 Mar. <https://doi.org/10.1101/2020.03.26.20044883>

51. Pan Y, Li X, Yang G, Fan J, et al.

Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. *Journal of Infection*. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.051> PMID: 32283141

52. Direction générale des laboratoires

Procédure d'autorisation de mise sur le marché au Sénégal des tests de diagnostic rapides du COVID-19 ; Validée le 30 avril 2020 ; Disponible sur : <http://dirlabosn.com/wp-content/uploads/2020/04/Procedure-de-mise-sur-le-march%C3%83%C2%A9-des-tests-de-diagnostic-du-COVID-19-1.pdf>

53. Haute Autorité de Santé

Cahier des charges définissant les modalités d'évaluation des performances des tests sérologiques détectant les anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2 ; Validée le 16 avril 2020 ; Disponible sur : https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-04/cahier_des_charges_test_serologique_covid19.pdf

RESUME

INTRODUCTION

Le SARS-CoV-2 est l'agent étiologique de l'épidémie de pneumopathie infectieuse qui s'est répandue en Chine et dans le monde est à l'origine de pneumonies potentiellement mortelles d'où intérêt d'un diagnostic positif précoce. Ainsi l'objectif de cette étude est d'évaluer les performances de deux TDR destinés au diagnostic indirect de l'infection au SARS-CoV-2.

METHODOLOGIE

Il s'agit d'une étude prospective analytique cas/témoin réalisée au niveau des laboratoires de Biochimie de Fann dans la période allant d'Octobre à Décembre 2020. Ont été inclus 125 sujets suivis pour COVID-19 au niveau du CTE et 75 sujets témoins négatifs. Le paramètre étudié est la recherche qualitative des anticorps IgG et/ou IgM anti Sars-Cov-2 dans le sérum.

RESULTATS

2019-nCOV/COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Device montre une sensibilité globale de 92% et 86,66% respectivement chez les patients infectés par le Sars-Cov-2 et les patients guéris.

Les résultats de l'évaluation de la performance du test **SARS-CoV-2 Antibody** révèlent des sensibilités de 94% et 84% respectivement chez les malades et chez les sujets guéris.

L'évaluation au niveau de notre laboratoire a retrouvé une excellente spécificité (100%) pour les deux kits.

L'utilité clinique d'un test TDR sérologique dépend de plusieurs facteurs :

- ✓ Ses performances (sensibilité et spécificité cliniques) (98 % de spécificité clinique et à 90 % ou 95 % pour la sensibilité) selon a HAS.
- ✓ le contexte épidémiologique dans lequel il est utilisé (prévalence)
- ✓ le moment où le test est réalisé en relation avec la cinétique des anticorps

CONCLUSION

Les performances globalement satisfaisantes de ces tests TDR en font un outil de choix pour la réalisation de dépistages de masse dans des populations à faible prévalence. Leur rapidité et leur simplicité de mise en œuvre permettent une répétabilité des tests au sein de populations données, cruciale dans un contexte de pandémie rapidement évolutive.