



16 octobre 2020
Journée Prévention du Risque Infectieux
en Etablissements de Santé

COVID-19, 9 mois plus tard...

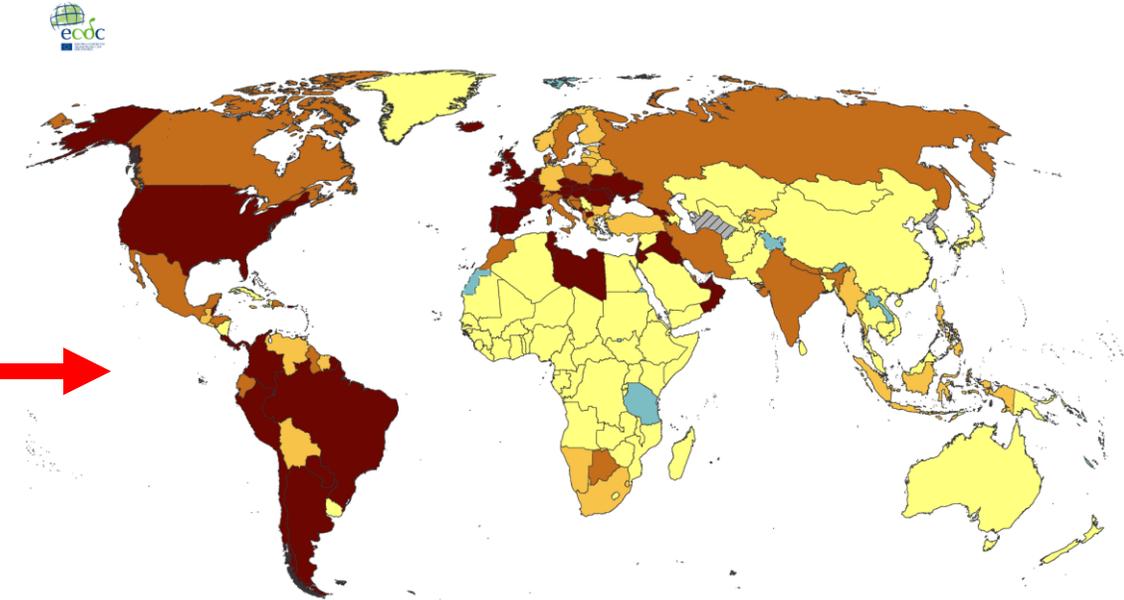
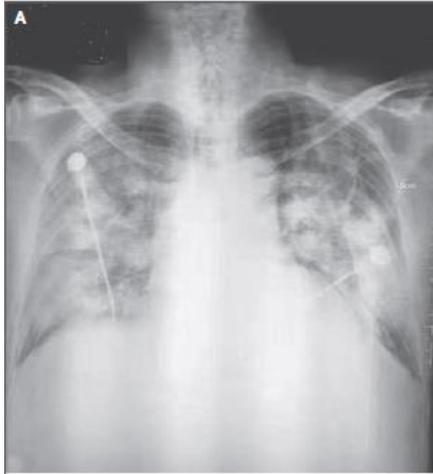
Comment traquer le virus : point sur les méthodes
diagnostiques virologiques



Pr Cécile HENQUELL
Service de Virologie médicale



**1^{ers} cas dans la province de Hubei, Chine
ville de Wuhan, 12/2019**



14-day COVID-19 case notification rate per 100 000, as of 11 of October, 2020

< 20.0	20.0 - 59.9	60.0 - 119.9	≥ 120.0	No new cases reported
Light yellow	Yellow	Orange	Dark red	Light blue
No cases reported by WHO and no cases identified in the public domain				

Administrative boundaries: © EuroGeographics © UN-FAO © Turkstat.
The boundaries and names shown on this map do not imply official endorsement or acceptance by the European Union.

Date of production: 11/10/2020

Infection respiratoire = COVID-19
(*coronavirus infectious disease – 2019*)



07/01/2020, identification de l'agent responsable :
Nouveau virus = SARS-CoV-2
(*Severe Acute Respiratory Syndrom-CoV-n°2*)

PANDEMIE
Déclarée par l'OMS le 11/03/2020
Au 11/10/2020 : **37,3 millions cas, dont 1,1 million décès**

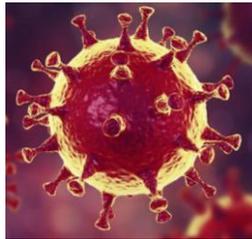
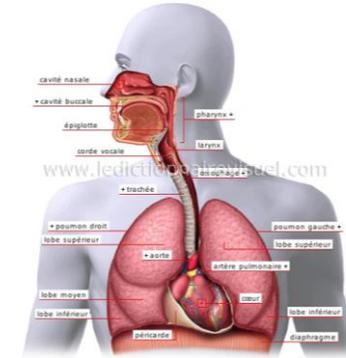


Coronavirus humains (HCoV)

Tropisme respiratoire

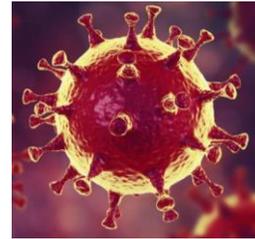
Tropisme digestif

→ l'infection s'accompagne d'une excrétion virale prolongée **dans les selles**



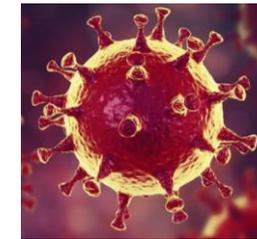
Coronavirus « classiques »

OC43
229E
(années 1960)



Coronavirus « nouveaux »

NL 63
HKU1
(2004-2005)



Coronavirus « émergents »

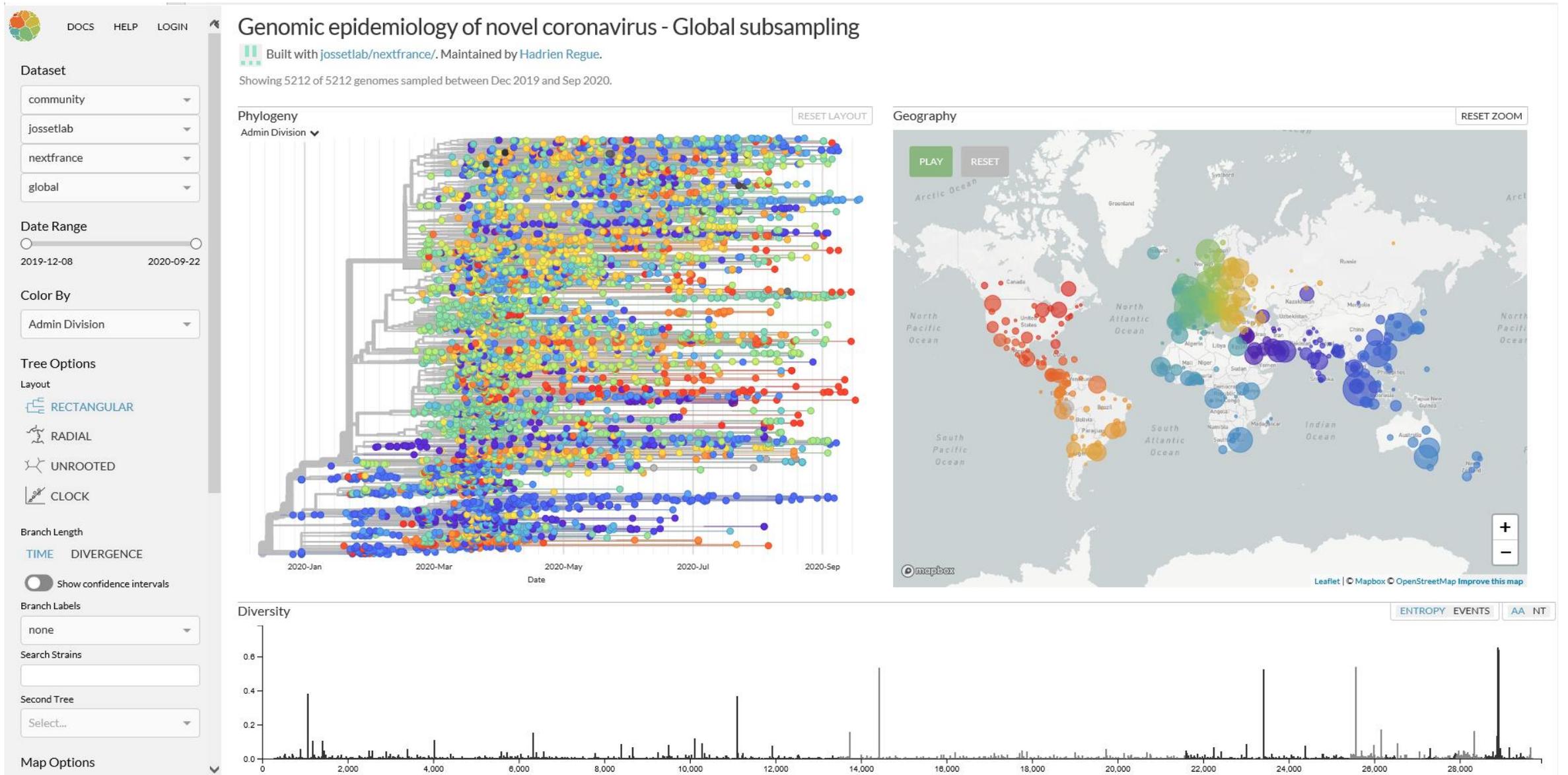
SARS CoV (2002)
MERS CoV (2012)
SARS CoV-2 (2019)

Infections respiratoires hautes et basses
peu à modérément sévères

Infections ubiquitaires, saisonnières (automne-hiver)

Définis comme hautement pathogènes
(SARS CoV-1 et MERS Co-V)

C'est toujours le même virus qui circule...



Les prélèvements pour diagnostic COVID-19

- **Les prélèvements respiratoires et les selles**

→ Peuvent contenir du virus

→ En triple emballage pour protéger les personnes qui transportent les prélèvements et le personnel des laboratoires



Embouteillage n°1



Embouteillage n°2
avec buvard absorbant



Embouteillage n°3

Bon de demande : dans la poche extérieure du 3^{ème} emballage!

→ 1^{ère} étape au laboratoire : passage à l'étuve
Inactivation du virus à 65°C 15 min. ou 56°C 30 min.

- **Le sang, pour sérologie ou recherche de virus par PCR**

(virémie inconstante, faible, seulement formes sévères)

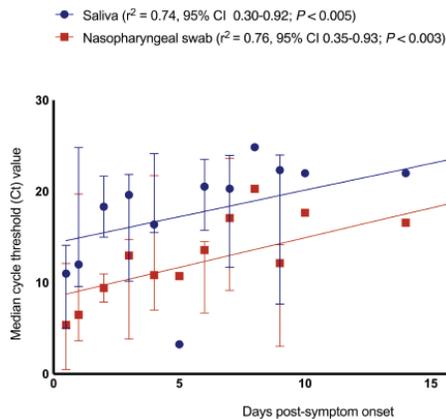
→ A considérer comme un tube de sang normal

→ Emballage et transport ordinaire

→ Ne pas mettre dans le même sachet que l'écouvillon

Et le prélèvement salivaire?

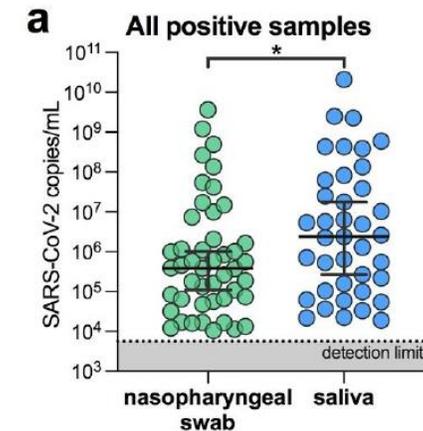
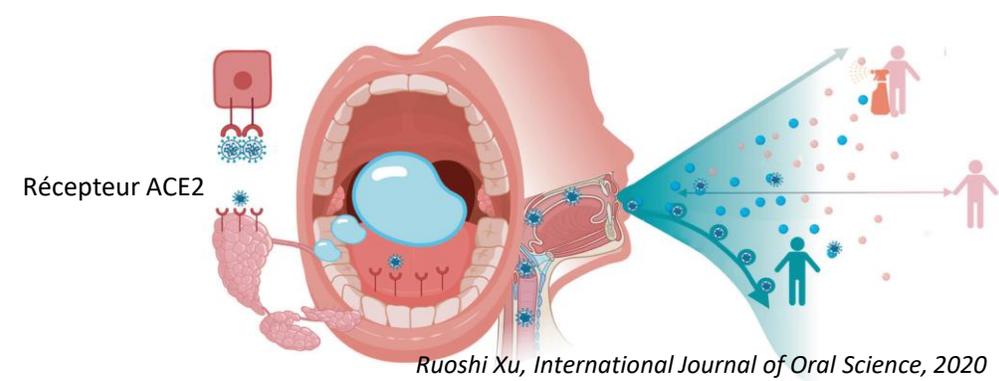
- « plus acceptable », possibilité d'auto-prélèvement
- Littérature : peu patients, résultats contradictoires



Plus le signal (Ct) de PCR est faible,
Plus la charge virale est forte

Populations
Différentes?

Eloise Williams, JCM, 2020



Anne L. Wyllie, medRxiv pre-print, 2020

- Avis favorable de la HAS : lorsque le prélèvement nasopharyngé est difficilement ou non réalisable, pour patients symptomatiques non hospitalisés jusqu'à 5 jours après le début des signes cliniques

Et le prélèvement salivaire?

- **Contraintes pour le prélèvement :**

- > 30 minutes après boisson, aliments, brossage dents, cigarette
- Décontamination extérieure du pot +++

- **Contraintes pour la réalisation du test :**

- Transfert et traitement pré-analytique : risque infectieux, temps donc allongement temps rendu de résultat
- Salive = milieu riche en enzymes, pouvant interférer avec la réaction de PCR

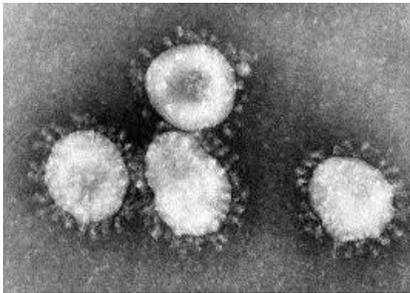
- **Indications actuelles :**

Si contre-indication du plvt nasopharyngé
Dans les 5 1^{ers} jours après début signes
(En cas de pénurie d'écouvillons)



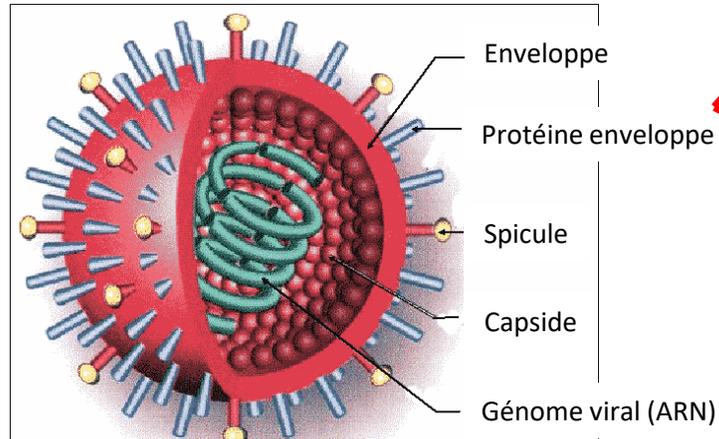
*Recommandations actuelles
identiques pour
prélèvement oropharyngé*

Les tests virologiques



SARS-CoV-2

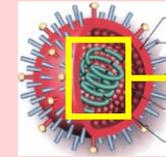
Coronavirus n°2 responsable du syndrome respiratoire aigu sévère



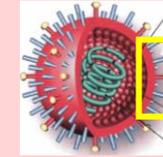
Structure simplifiée d'un virus enveloppé à ARN

Mettre en évidence le virus ou ses composants

Détection du virus sur culture cellulaire (virus entier, infectieux)

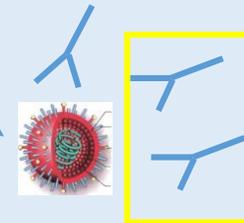


Détection de l'ARN du virus = test PCR

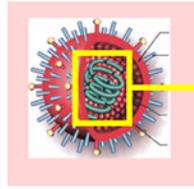


Détection d'une protéine virale = test antigénique

Mettre en évidence les anticorps développés contre le virus = tests sérologiques



Détection des anticorps anti-SARS-CoV-2

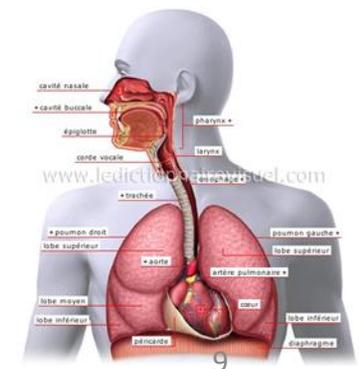
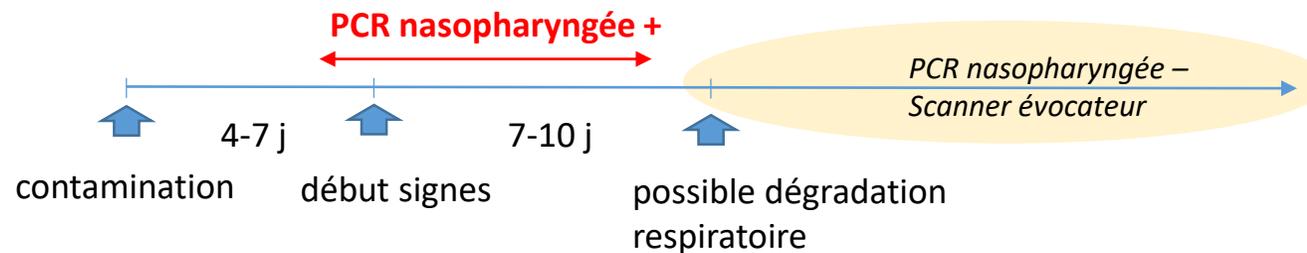


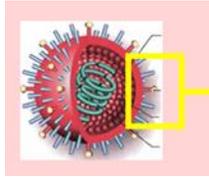
Test PCR

- Permet de détecter le virus (son ARN) dans les sécrétions respiratoires :
écouvillonnage nasopharyngé,
aspiration bronchique, liquide de lavage broncho alvéolaire (risque aérosolisation),
(selles, à partir de la 2^{ème} semaine suivant le début des signes cliniques)
- C'est le test de référence :
Étape d'amplification → méthode diagnostique la plus sensible (sensibilité > 98%)
- PCR + de J-2 avant le début des symptômes à J7 (chez la majorité des personnes infectées)



Même prélèvement
que pour la grippe !



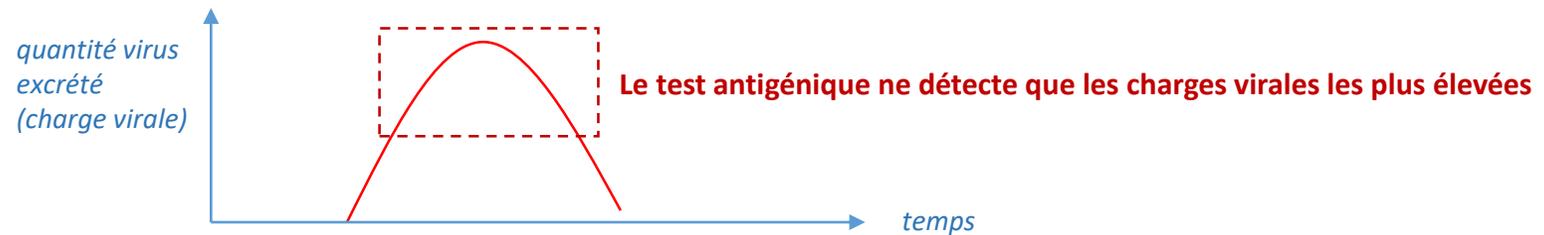


Test antigénique

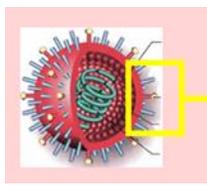
- Permet de détecter le virus (une de ses protéines) dans les sécrétions nasopharyngées
- Résultat en < 30 min.
- C'est un test moins sensible que la PCR : un positif sur 2 en PCR est non détecté



**Pas un test diagnostique
(pas à l'hôpital)**



- C'est un test appelé TROD = test rapide d'orientation diagnostique, adapté au dépistage de masse (quand tester toute une population est impossible, quand on cherche à dépister/isoler les personnes les plus contagieuses) ---> expérimentations en cours campus universitaires, personnel EHPAD ---> cabinet médical, pharmacies ?



Test antigénique

Avis n° 2020.0059/AC/SEAP du 8 octobre 2020 du collège de la Haute Autorité de santé relatif à l'utilisation de la détection antigénique du virus SARS-CoV-2 sur prélèvement nasopharyngé **en contexte ambulatoire**

I. Patients symptomatiques

Considérant que ... lorsque le résultat du test de référence ne peut être obtenu dans un délai de 48 heures

La HAS est favorable à l'utilisation de la détection antigénique du virus SARS-CoV-2 sur prélèvement nasopharyngé jusqu'à 4 jours inclus après apparition des symptômes. A partir du 5ème jour, seule la détection par amplification génique est indiquée.

Compte tenu de leur excellente spécificité et de la situation pandémique actuelle, la HAS **ne recommande pas une confirmation systématique** des tests antigéniques positifs par un test PCR.

Considérant que pour les personnes à risque de forme grave de COVID-19 (personnes de plus de 65 ans ou présentant au moins un facteur de risque), ne pas être diagnostiqué génère une perte de chance ; Considérant l'impact des résultats du test sur la prise en charge de ces patients (mise en place d'un suivi renforcé) ;

La HAS recommande de réaliser un test de détection par amplification génique lorsque le résultat du test antigénique est négatif ou ininterprétable chez les patients symptomatiques de plus de 65 ans ou présentant au moins un facteur de risque de forme grave de la COVID-19.

II. Personnes asymptomatiques

Personnes-contacts détectées isolément ou sein de « clusters »

Considérant l'absence de données cliniques disponibles, la HAS ne peut, à ce stade, recommander l'usage des tests antigéniques pour la détection du SARS-CoV-2 chez ces personnes. Pour cette raison, seule la détection du SARS-CoV-2 par amplification génique sur prélèvement nasopharyngé ou oropharyngé est indiquée. Cette position sera réévaluée ...

Personnes dans le cadre d'un dépistage ciblé à large échelle

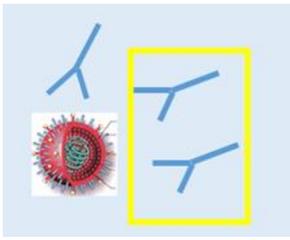
Considérant l'intérêt d'un dépistage ciblé pour la détection de cluster(s) ; Considérant l'absence de données disponibles ; Considérant que les tests de détection virale par amplification génique ne sont pas utilisables en pratique dans ce contexte de besoin non couvert ;

La HAS est favorable à l'utilisation de tests de détection antigénique pour réaliser des actions de dépistage à large échelle au sein de populations ciblées (université, personnel des hébergements collectifs...), préalablement identifiées en fonction de différents critères (potentiel de contamination, prévalence...).

Autres situations

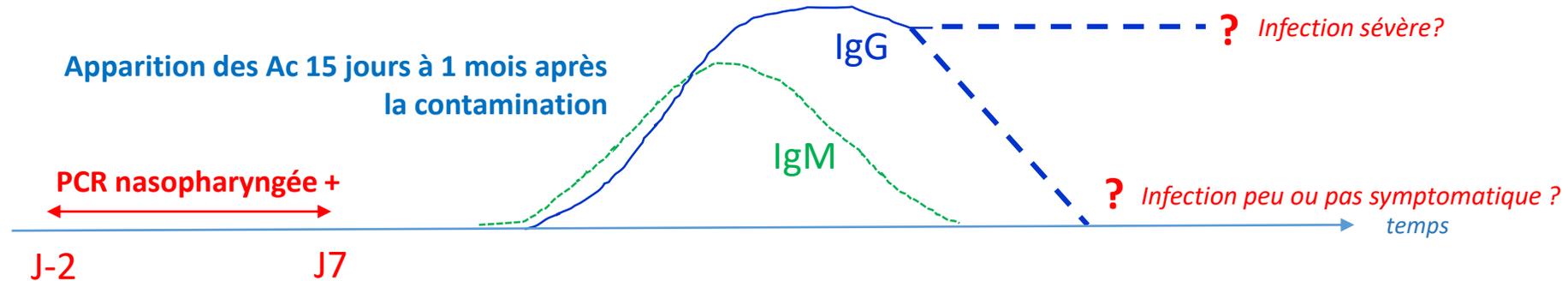
Considérant l'absence de bénéfice individuel ou collectif pour les autres personnes asymptomatiques, la HAS ne recommande pas l'utilisation de tests virologiques.

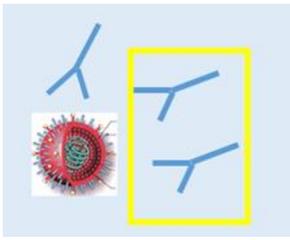
Considérant l'absence de bénéfice et le probable rendement très faible, la HAS ne recommande pas le dépistage non ciblé en population générale.



Sérologie SARS-CoV-2

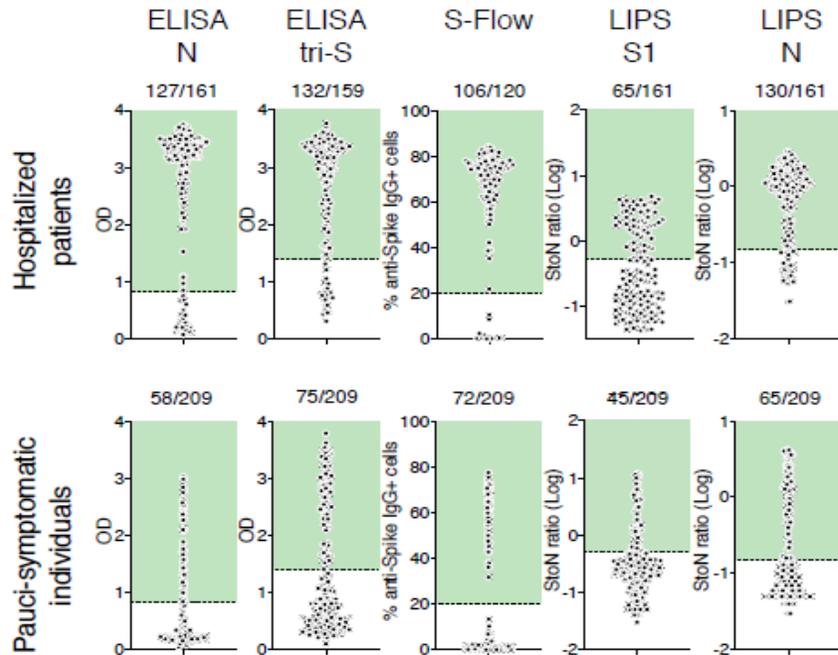
- Permet de détecter les anticorps spécifiques développés contre le SARS-CoV-2 :
→ Leur présence témoigne d'une infection par le virus
- Cinétique d'apparition des anticorps :



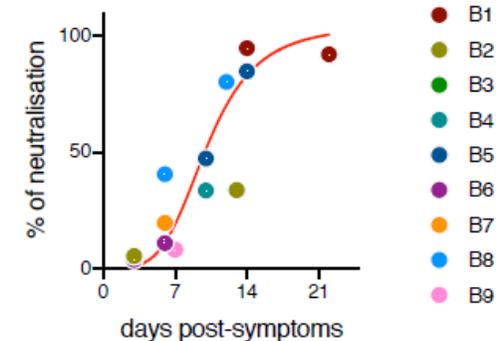


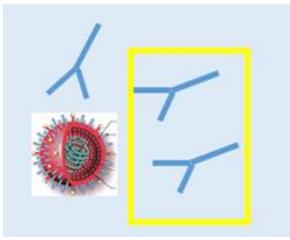
Sérologie SARS-CoV-2

- Performances différentes selon les tests, selon la sévérité de l'infection



Cohort	ELISA N	ELISA tri-S	S-Flow	LIPS S1+ N	Antibody prevalence
Pre-epidemic individuals	23/491 (5%)	5/100 (5%)	0/240 (0%)	3/280 (1%)	
Hospitalized patients	33/51 (65%)	35/51 (69%)	21/29 (72%)	35/51 (69%)	69% (65-72%)
Pauci-symptomatic individuals	56/209 (27%)	75/209 (36%)	73/209 (35%)	68/209 (32%)	32% (27-36%)
Blood donors	0/200 (0%)	2/16	6/200 (3%)	0/200 (0%)	3% (0-3%)





Sérologie SARS-CoV-2



Intérêt du test rapide dans les pharmacies?

- Pas un test pour le faire le diagnostic en début d'infection
- Diagnostic rétrospectif (*'j'ai fait l'infection ou pas'*), mais intérêt limité puisque qu'on ne sait pas encore si les anticorps protègent d'une nouvelle infection
- Indications selon Arrêté du 27 mai 2020 (JORF 28 mai 2020) :
 - 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 dans l'intervalle des sept jours suivant l'apparition des symptômes
 - Diagnostic chez les professionnels soignants non symptomatiques, en complément du dépistage et de la détection de personne- contact par RT-PCR selon les recommandations en vigueur, si la RT-PCR est négative
 - Diagnostic chez les personnels d'hébergement collectif (établissements sociaux et médico sociaux, prisons, casernes, résidences universitaires, internats) non symptomatiques en complément du dépistage et de la détection de personne-contact par RT-PCR selon les recommandations en vigueur, si la RT-PCR est négative

En conclusion

Test de référence pour diagnostiquer une infection aiguë à SARS-CoV-2 (et autres viroses respiratoires)
= PCR sur prélèvement nasopharyngé

Outil indispensable pour la prise en charge clinique des patients, et pour la maîtrise de l'épidémie
(santé publique : place des TROD à venir)

Si test négatif :
- ou mauvaise qualité du prélèvement → re-prélever les 2 narines et la gorge (oropharynx)
- ou le virus n'est plus dans les voies aériennes supérieures

Si suspicion intervient tardivement (> 10 jours après le DDS) : sérologie en complément