

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة امحمد بوقرة بومرداس
Université M'Hamed Bougera, Boumerdès



Faculté des Sciences
Département de Biologie

MEMOIRE DE MASTER

Pour l'obtention du diplôme de Master II
Option : Génétique

Thème :

**Diagnostic moléculaire de la COVID-19 grâce la détection du virus
SARS-COV2 par RT-PCR en temps réel et comparaison avec les
tests antigéniques**

Présenté par :

Hadjloum Salima et MessaoudiKhaoula

Devant le jury composé de :

Mme Remana S. MMA (FS/UMBB)	Président du jury
Mme Mahiddine L. MCB(FS/UMBB)	Promoteur
Mme Boukercha A. MCB (FS/UMBB)	Examinatrice

Promotion 2020/2021

Remerciement

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de réaliser ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de « Mme Mahiddine Leila », on le remercie pour la qualité de son encadrement, ses encouragements et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

On remercie les jurys « Mme Remana S et Mme Boukercha A » pour l'examen de ce modeste travail.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs de notre équipe de formation leurs générosités et ses aides pendant tous ces années et toutes personnes qui nous ont aidés de près ou de loin.

Dédicace

J dédie ce travail

A mes très chers parents, vous étiez toujours pour moi un exemple des parents respectueux, honnêtes, je tiens à honorer les parents que vous êtes.

Grâce à vous j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais vous remercier pour votre amour, vos générosités, votre compréhension... votre soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que vous avez déployés pour mon éducation et ma formation. Je vous aime maman, papa et j'implore dieu le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A vous mes sœurs, vous étiez toujours là pour me soutenue et encouragé durant toute ces années.

A mon soutien dans cette vie qui a été toujours là pour moi durant tous mes moments difficiles, qui a cru en moi et qui m'a encouragé.

A mes amies ADJERID chahinez et BOUEKRADECH assia Je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Sans oublier ma binôme MESSAOUDI khaoula pour son soutien moral sa patience et sa compréhension toute au long de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail,

A mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sentiments, pour leur patience illimités, leur encouragement, leur aide.

A mes sœurs, mon frère, tous mes camarades de promotion de Master 2 « Génétique », ainsi à mon binôme HEDJLOUM salima.

Résumé :

La pandémie de la COVID-19 est une maladie infectieuse émergente à l'origine d'une crise sanitaire mondiale. Elle est causée par le nouveau coronavirus SARS-CoV-2 du genre *betacoronavirus*, qui est apparu en chine en 2019 avant de se propager dans le monde. Le génome du coronavirus est constitué d'un ARN simple-brin de 30 Kb soit 29903 nucléotides et 11 gènes. Les manifestations cliniques induites par cette infection peuvent varier du simple rhume jusqu'au syndrome respiratoire aigu sévère. La crise sanitaire mondiale que nous vivons présente un défi majeur en matière de diagnostic. En effet, la détection rapide et spécifique de ce virus permet une bonne maîtrise de la pandémie. Plusieurs tests de dépistage ont été développés et sont utilisés pendant la phase précoce de l'infection. En l'occurrence la RT-PCR en temps réel qui cible le gène E ou RdRp pour l'identification de l'ARN du SARS-CoV-2 ainsi que le test de détection de l'antigène spécifique de ce virus par ELISA ou autres méthodes immuno-chromatographiques suite à un prélèvement nasopharyngée. Bien que la spécificité de la RT-PCR dans le diagnostic de la COVID soit élevée, sa sensibilité dépend de la charge virale, de la qualité de l'échantillon et du moment de son prélèvement. Cette analyse moléculaire vient toutefois en complément à d'autres investigations. Pour les tests antigéniques, ils sont moins sensibles que la RT-PCR. Mais vu leur rapidité et leur coût relativement peu onéreux, ils pourraient être intéressants pour le dépistage de masse ou lors de situations d'urgence. Quant aux tests sérologiques, ce sont des indicateurs de la prévalence du SARS-CoV-2 et de l'immunité collective. Ils permettent de définir la cinétique des anticorps. Des études évaluant la concordance entre tous ces tests seraient nécessaires à ce stade de la pandémie.

Mots clés : Coronavirus, SARS-CoV-2, Pandémie, RT-PCR, Tests antigéniques, Tests sérologiques.

Sommaire

Sommaire

Introduction Générale	01
-----------------------------	----

Chapitre I : Revue Bibliographique

1/. Emergence de la pandémie de la COVID-19.....	03
2/. Agent causale de l'infection.....	03
2.1 Le virus SARS-COV2.....	03
2.2 Description du coronavirus SARS-COV-2.....	05
2.3 Voix de transmission du virus.....	07
2.4. Mode d'action du virus.....	09
2.5. Symptômes et manifestations cliniques.....	10
2.6. Les différents variants de SARS-COV2.....	10
3. Diagnostique de l'infection.....	13
3.1 Recherche du SARS-COV2 par RT-PCR en temps réel.....	13
3.2 Les tests antigéniques.....	17
3.3. Les tests sérologiques.....	18
3.3 Autres moyens de diagnostic « scanner thoracique ».....	19
4. Prise en charge des personnes atteints de la COVID-1.....	20
4.1 Protocol sanitaire	20
4.1.1 mesure de prévention	20
4.1.2. Thérapie médicamenteuse.....	21
4.2.La vaccination contre COVID-19.....	22
4.2.1 Les différentes technologies vaccinales développées.....	22
4.2.2. L'efficacité de ces vaccins sur les différentes variantes.....	23

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1/. Matériel biologique	25
2/. Méthodes.....	26
2.1. Prélèvement nasopharyngé.....	26
2.2. Diagnostique du COVID-19 par RT-PCR en temps réel.....	26
2.3. Diagnostique du COVID-19 par des tests antigéniques.....	30

Chapitre III : Discussion

1/. Fiabilité des résultats des méthodes de diagnostic.....	32
2/. Comparaison entre la technique de détection moléculaire du SARS-COV-2 par RT-PCR en temps réel et les tests antigéniques.....	37
3/. Apport des tests sérologiques dans le suivi de l'infection.....	38

Conclusion et perspectives.....	40
--	-----------

Références bibliographiques.....	41
---	-----------

Liste des abréviations

COVID-19 : Maladie de corona virus -2019
SARS-Cov-2 : Syndrome Respiratoire Aigu Sévère– Coronavirus-2
ACE2 : Enzyme de conversion de l'angiotensine2
ORF : Cadre de lecture ouvert
NSPs : Polymorphisme d'un seul nucléotide
RT-PCR : La réaction de polymérisation en chaine par transcription inverse
ARN : Acide ribonucléique
ELISA : Dosage d'immunoabsorption par enzyme liée
GISAID :Initiative mondiale sur le partage des données relatives à la grippe aviaire
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
COV : Corona Virus
ICTV : Comité international de taxonomie des virus
MERS-Cov : Syndrome respiratoire de Moyen-Orient-Coronavirus
Kb : kilo base
ARNm : Acide ribonucléique messenger
TRS : Séquence régulatrice de transcription
DPP4 : Dipeptidyl peptidase 4
RE : Réticulum Endoplasmique
NTD : Domaine-N Terminal
CTD : Domaine-C terminal
AT2 : Alvéolaire pulmonaire de type2
RAS : Système Rénine Angiotensine
IgM : Immuno globuline de type M
IgG : Immuno globuline de type G
ADN : Acide désoxyribonucléique
AP-HP : Assistance Publique- Hôpitaux Paris
Ig : Immuno globuline
CRP : Protéine C-réactive
mg/L : milli-gramme / Litre
g/L : Gramme/ Litre
Il-6 : Inter-leukine-6
Il-8 : Inter-leukine-8
TNF α : Facteur de nécrose Tumoral α
SDRA : Syndrome de Détresse Respiratoire Aigue
mg/ J : milli-gramme/ Jour
SpO2 : Saturation pulsée de l'hémoglobine en oxygène
L/ min : Litre/minute
IgA : Immuno globuline de type A
ADNc :Acide désoxyribonucléique complémentaire
dNTP : Désoxyribonucléoside phosphaté

ERGIC : Compartiment intermédiaire réticulum endoplasmique –Golgi

Nm : Nanomètre

TMRCA : ancêtre commun le plus proche.

Liste des Figures

Figure 1. Classification des coronavirus	05
Figure 2. Génome de SARS-Cov, MERS-Covid, SARS-Cov2	06
Figure 3. Structure de coronavirus 2.....	07
Figure 4. Modèle de transmission de SARS-Coronavirus (SARS-COV-2), MERS Coronavirus (MERS -coV) et le nouveau coronavirus (SARS-COV-2).....	08
Figure 5. Agents se liant à l'ADN double brin (Double-stranded DNA binding dyes : Lightcycler assay).....	14
Figure 6. Hydrolyse de sondes (Hydrolysis probes : Taqman assay).....	15
Figure 7. Balises moléculaires (Molecular Beacons)	16
Figure 8. Evolution de la production des anticorps IgM et IgG au cours de l'infection par le SARS-CoV-2.....	19
Figure 9. Scanner thoracique typique de pneumonie COVID-19 chez un homme âgé de 35ans.....	20
Figure 10. Prélèvement d'un échantillon sur écouvillon nasopharyngé.....	26
Figure 11. Les étapes de fonctionnement des tests antigéniques Covid19.....	31

Liste des Tableaux

Tableau I. Principal mutations et caractéristique majeur des variants préoccupants du SARS-COV-2.....	11
Tableau II. Différents types de prélèvement biologique réalisés chez des patients COVID-19+ en fonction des paramètres recherchés.....	25
Tableau III. Différents protocoles de la RT-PCR utilisés dans le monde.....	28
Tableau IV. Temps moyen et taux de séroconversion dans le cas de COVID-19 déduits des résultats de l'examen de 173 patients avec un diagnostic confirmé par (Zhao et <i>al.</i> , 2020.....	36
Tableau V. tableau comparatif entre tests RT-PCR et tests antigénique.....	38

Introduction Général

Introduction Général

La pandémie de la COVID-19 est une maladie infectieuse respiratoire émergente causée par le nouveau coronavirus le SARS-CoV-2. Celle-ci a placé les systèmes de santé du monde entier en état d'alerte. En raison de sa forte transmissibilité et la présence de personnes présentant des formes graves nécessitant une prise en charge en réanimation (OMS., 2020).

Le séquençage et l'analyse phylogénétique du génome du SRAS-CoV-2 a montré que ce virus est similaire au coronavirus SARS-CoV et utilise le même récepteur d'entrée cellulaire, l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (Zhang *et al.*, 2019). L'ACE2 est fortement exprimée dans les cellules alvéolaires, cardiaques, épithéliales de l'œsophage, de l'iléon et du côlon, ce qui suggère que ces organes pourraient être à risque d'infection par le SRAS-CoV-2 (Zou *et al.*, 2020).

L'analyse génomique de plusieurs échantillons de SRAS-CoV-2 prélevés en Algérie et dans d'autres pays du monde, a révélé la présence de plusieurs mutations (Zeghib *et al.*, 2020). En l'occurrence, le remplacement unique de l'acide aminé L129F présent dans le gène orf3a entre les séquences d'origine française et algérienne « Algeria_EPI_ISL_418241 ». De même, il existerait un lien entre le variant « Algeria_EPI_ISL_420037 » et les séquences provenant des États-Unis. Ces dernières auraient subi la substitution d'un acide aminé caractéristique, le T1004I, présent dans les gènes orf3a et nsp3 (Zeghib *et al.*, 2020). Des variants du SRAS-CoV-2 ayant une incidence sur la santé publique ont été identifiées : la lignée B.1.1.7 (501Y.V1, COV 202012/01 originaire du Royaume-Uni), la lignée P.1 (anciennement B.1.1.28; originaire du Brésil) et la lignée B.1.351 (501Y.V2; originaire d'Afrique du Sud) (Public Health., 2020). Tout récemment, un nouveau variant Delta (anciennement appelé variant indien) est passé depuis le 12 mai en catégorie VOC, (Variant Of Concern) et rejoint donc les Variants Britannique (alpha), Sud-Africain (Bêta) et Brésilien (Gamma). Il est considéré comme un mutant "préoccupant" qui inquiète particulièrement les épidémiologistes internationaux (Demmer *et al.*, 2021).

Par ailleurs, cette pandémie présente des défis importants en matière de diagnostic. Plusieurs stratégies de dépistage ont été développées et sont utilisées pendant la phase précoce de l'infection. En l'occurrence la RT-PCR en temps réel (Réaction de transcription inverse combinée à la polymérisation en chaîne) qui cible l'amplification du gène E ou RdRp pour l'identification de l'ARN du SARS-CoV-2. Ainsi que d'autres tests de détection de l'antigène spécifique de ce virus par ELISA ou autres méthodes immuno-chromatographiques suite à un prélèvement nasopharyngé (Son *et al.*, 2020).

Dans ce présent travail, nous proposons de comparer les différentes techniques de dépistage de cette maladie en mettant en évidence les avantages et les inconvénients de chacune d'entre elles. Nous allons aborder dans le premier chapitre l'historique d'apparition du SARS-Cov-2 et sa propagation dans le monde y compris en Algérie, ainsi que des généralités sur sa

structure et son génome et les mécanismes qui permettent sa transmission. Tout en évoquant la méthode de prise en charge médicale appropriée à chaque cas.

Dans le deuxième chapitre, nous allons décrire les différentes méthodes de diagnostic moléculaire du SARS-Cov-2 suite à un prélèvement nasopharyngé, à savoir le dépistage par RT-PCR et par la recherche d'antigènes spécifiques.

Le troisième chapitre est consacré à la description des avantages et inconvénients des différentes stratégies de dépistage de cette infection dans le monde. Ceci est d'un rapport majeur dans l'orientation et l'efficacité du diagnostic car la détection rapide et spécifique de ce virus permet une bonne maîtrise de la pandémie.

Chapitre I : Revue Bibliographique

1/. Emergence de la pandémie de la COVID-19

L'apparition du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère « SARS » remonte à 2002, suivi par l'épidémie du syndrome respiratoire du Moyen-Orient en 2012. Tout récemment, est apparue un nouveau virus SARS-CoV2 à l'origine de la pandémie de la COVID-19 qui est une nouvelle maladie infectieuse apparue pour la première fois dans la province de Hubei, en Chine, durant le mois de décembre 2019. Cette infection a été signalée pour la première fois dans un marché de fruits de mer et d'animaux à Wuhan ; avec des personnes atteintes présentant une forme atypique de pneumonie (World Health Organization., 2020).

Le nouveau coronavirus a été officiellement identifié comme l'agent causal de cette infection pulmonaire et sa séquence génomique a été rapidement publiée (Zhang *et al.*, 2019) dans la base de données des séquences virales conservée par « Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data » (GISAID) (Zhou *et al.*, 2020). À partir de là, l'OMS a nommé la nouvelle pneumonie induite par ce coronavirus en tant que maladie à coronavirus 2019 (COVID) et la commission internationale de classification des virus a annoncé que ce virus connu sous le nom de 2019-nCov était à présent nommé Coronavirus du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère2 (SARS-CoV-2).

Malheureusement, cette infection s'est révélée être très contagieuse au-delà des autres coronavirus déjà connus. En effet, le nombre de personnes atteintes dans le monde a dépassé actuellement les 181 millions avec pas moins de trois millions neuf cent mille décès au 29 juin 2021 (Worldometer COVID-19 Coronavirus Pandemic., 2021). Ce qui est à l'origine de la surcharger les unités de soins intensifs entraînant l'effondrement des systèmes de santé à travers le monde.

La COVID 19 a fait son apparition en Algérie le 25 février 2020, lorsqu'un ressortissant italien a été testé positif au SARS-CoV-2. À partir du 1^{er} mars 2020, un foyer de contagion se forme dans la wilaya de Blida, seize membres d'une même famille ont été contaminés lors d'une fête de mariage à la suite de contacts avec des ressortissants algériens résidents en France. Progressivement, l'épidémie s'est propagée pour toucher toutes les wilayas. On recense maintenant plus de 205 milles personnes atteintes et 5864 décès (OMS., 2020).

2/. Agent causale de l'infection

2.1 Le virus SARS-CoV2

Les coronavirus (CoV) sont des agents pathogènes importants des vertébrés capables de provoquer des maladies respiratoires, entériques et systémiques chez l'homme et l'animal (Loeffelholz *et al.*, 2020). Ce virus appartient à la sous-famille des *Orthocoronavirinae* de la famille des *Coronaviridae* et de l'ordre des *Nidovirales*.

Cette sous-famille est divisée en quatre genres, à savoir, *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* et *Deltacoronavirus* (Figure 1). La majorité des coronavirus cliniquement pertinents appartiennent aux genres *Alphacoronavirus* et *Betacoronavirus* (Cui *et al.*, 2019). Le genre *Alphacoronavirus*

comprend des espèces affectant un groupe diversifié de mammifères, dont deux virus le 229E et le NL63 qui sont retrouvés chez l'homme (Zhang et al., 2020).

Dans le cas du genre *Betacoronavirus*, le Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV) les divise actuellement en cinq sous-genres, *Embecovirus*, *Sarbecovirus*, *Merbecovirus*, *Nobecovirus* et *Hibecovirus*. Cette classification est établie sur la base de l'analyse phylogénétique des domaines protéiques conservés (Chen et al., 2020). Les quatre premiers sous-genres étaient auparavant connus sous le nom de lignées ou de sous-groupes A, B, C et D, respectivement. Le sous-genre *Embecovirus* comprend deux espèces de coronavirus humains (HKU1 et OC43), ainsi que plusieurs coronavirus spécifiques des animaux d'intérêt vétérinaire tels que les coronavirus bovin, canin, équin, porc et murin. Le sous-genre *Sarbecovirus* comprend des coronavirus liés au syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) tels que le SRAS-CoV et le SRAS-CoV-2 responsables de l'épidémie de SRAS de 2002-2003 et de la pandémie de coronavirus 2019-2020 (COVID-19) respectivement. Dans ce sous-genre, on retrouve aussi plusieurs coronavirus de chauve-souris (*Rhinolophus* sp.) qui sont liés au SRAS (Cui et al., 2019). En 2005, il a été rapporté la découverte de nouveaux coronavirus liés au SRAS-CoV humain, appelés virus liés au SRAS-CoV ou coronavirus de type SRAS, chez des chauves-souris fer à cheval (*Rhinolophus*) (Lau et al., 2005 ; Li et al., 2005). Cette découverte les chauves-souris peuvent être les hôtes naturels du SRAS-CoV et que les civettes ne sont que des hôtes intermédiaires. Par la suite, de nombreux coronavirus phylogénétiquement liés au SRAS-CoV (SARSr-CoV) ont été découverts chez les chauves-souris dans le monde (Lau et al., 2005 ; Huet et al., 2017 ; Lacroix et al., 2017 ; Li et al., 2005 ; Tong et al., 2009). Selon les critères de la Commission Internationale de Nomenclature des Virus seules les souches trouvées chez les chauves-souris *Rhinolophus* dans les pays européens, les pays d'Asie du Sud-Est et la Chine sont des variantes du SRAS-CoV. Ceux des chauves-souris *Hipposideros* qui se trouvent en Afrique sont plus éloignés du SRAS-CoV et devraient être classés comme une nouvelle espèce de coronavirus (Tong et al., 2009). Ces données indiquent que le SRAS-CoV a une large diffusion géographique et pourrait avoir été répandu chez les chauves-souris pendant très longtemps (Ge et al., 2013 ; Hu et al., 2017 ; Wang et al., 2016).

Le sous-genre *Merbecovirus* comprend les coronavirus liés au syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS), y compris le MERS-CoV responsable de l'épidémie de MERS de 2012, ainsi que deux autres espèces de coronavirus de chauves-souris isolées des espèces *Tylonycteris* et *Pipistrellus*. Les sous-genres *Nobecovirus* et *Hibecovirus* ne comprennent que des coronavirus de chauve-souris, principalement isolés des espèces *Rousettus* et *Hipposideros* respectivement (Hu et al., 2017).

Depuis l'épidémie de SARS de 2002–2003, la collecte des informations génomiques est devenue de plus en plus importante dans la lutte contre la propagation des coronavirus pathogènes. Avant la pandémie de la COVID-19, il y avait près de 1200 génomes complets de bêta-coronavirus séquencés et déposés dans la base de données GenBank. Le nombre de génomes disponibles a considérablement augmenté suite à cette pandémie, avec plus de 6000 génomes complets disponibles en juin 2020 et près de 50000 séquences génomiques dans d'autres référentiels publics (Wang et al., 2020). Une variété d'informations, y compris les

relations phylogénétiques, le mode de transmission, les taux d'évolution et le rôle des mutations dans l'infection et la gravité de la maladie peuvent être déduites de la comparaison entre plusieurs génomes (Sola et *al.*, 2015).

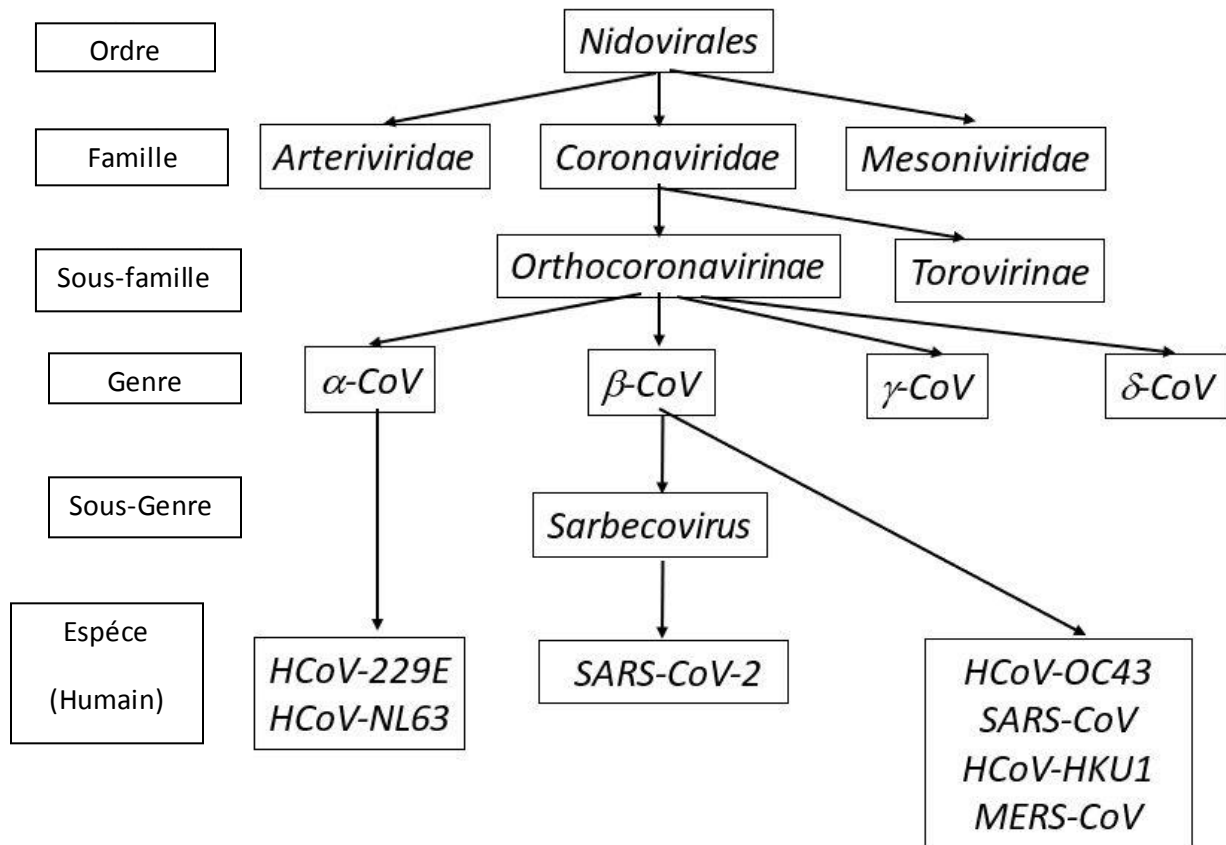


Figure 1. Classification des coronavirus (Woo et *al.*, 2012)

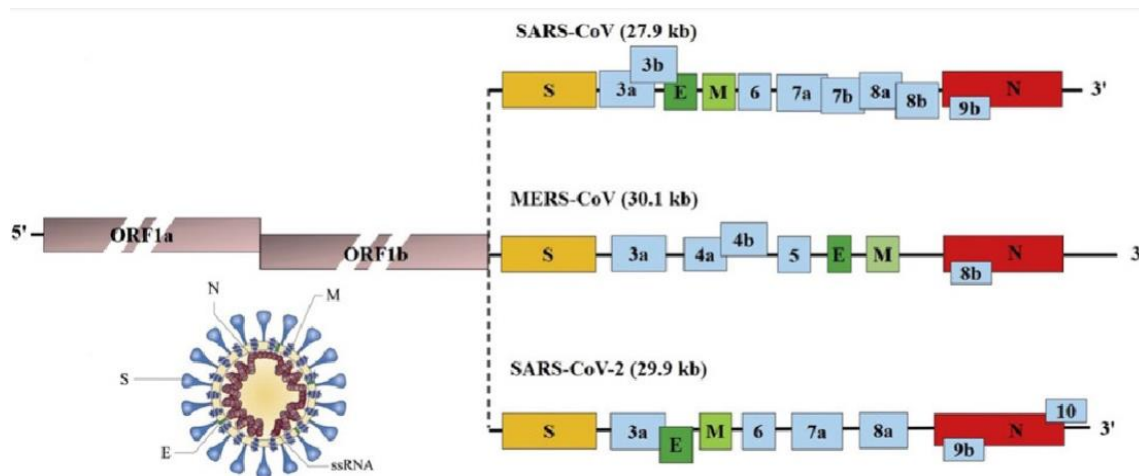
2.2 Description du coronavirus SARS-CoV-2

- **Structure du génome**

Les bêtacoronavirus, comme tous les autres membres de la famille des *Coronaviridae* ont des génomes d'ARN relativement volumineux d'environ 30 kb. Ces génomes ont de courtes régions non traduites (UTR) au niveau des deux extrémités, avec une coiffe méthylée 5' et une queue polyadénylée 3' (Sola et *al.*, 2015). En règle générale, les génomes contiennent de 9 à 12 cadres de lecture ouverts (ORF), dont six sont conservés et suivent le même ordre (Figure 2). Ces ORF conservés codent pour les polyprotéines réplicase / transcriptase et les protéines structurales du pic (S), de l'enveloppe (E), de la membrane (M) et de la nucléocapside (N). La réplicase / transcriptase est organisée en deux ORF qui se chevauchent,

appelés ORF1a (11–13 kb) et ORF1b (7–8 kb), qui occupent près des deux tiers du génome. Ces ORF sont transcrits et traduits en deux polyprotéines qui se clivent ensuite pour former plusieurs protéines non structurales (Nsps), mais qui sont impliquées dans la réplication et la transcription du génome (Li *et al.*, 2003).

Comme pour la plupart des virus, le génome des coronavirus est compact et ne code que pour les protéines nécessaires au cycle de réplication virale. La transcription des gènes codant pour les protéines implique la production d'ARNm sous-génomiques contenant une séquence leader commune à leur extrémité 5' (**Figure 2**). Ce leader commun est à son tour codé près de l'extrémité 5' du génome et sa fusion aux ARNm sous-génomiques est médiée par une séquence de régulation de la transcription conservée (TRS) précédant la plupart des gènes (Li *et al.*, 2003).



S : protéine Spike ; N : protéine nucléocapside ; M : protéine de membrane ; E : protéine d'enveloppe

Figure 2. Génome de SARS-CoV, MERS-Cov, SARS-Cov2 (Li *et al.* 2020)

• Protéine Spike (S)

Spike (S) est une glycoprotéine qui reconnaît le récepteur de la cellule hôte et permet au virus de se fixer à la surface des cellules hôtes. Son nom fait référence aux structures en forme de pointe situées sur la surface externe de l'enveloppe virale, qui sont des trimères de la protéine S (Sainz *et al.*, 2005). Après reconnaissance et fixation du récepteur, le virus pénètre dans la cellule hôte par endocytose ou par fusion directe de son enveloppe avec la membrane plasmique de la cellule hôte. Le SRAS-CoV et le SRAS-CoV-2 utilisent l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) comme récepteur (Zhou *et al.*, 2020), tandis que le MERS-CoV utilise la dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) (Raj *et al.*, 2013). Les coronavirus murins utilisent l'antigène carcino-embryonnaire murin molécule d'adhésion apparentée 1 (mCEACAM1a) (Nédellec *et al.*, 1994 ; Williams *et al.*, 1991).

- **Protéines d'enveloppe (E) et de membrane (M)**

Les protéines de l'enveloppe (E) et de la membrane (M) sont des protéines membranaires intégrales conservées, associées à l'enveloppe (**Figure 3**). Les protéines S, E et M sont transloquées dans le réticulum endoplasmique (RE) de la cellule hôte pendant la traduction. Contrairement à la protéine S, les protéines E et M ne semblent pas avoir de peptide signal N-terminal reconnaissable (Fehr et *al.*, 2015). Dès leur entrée dans le RE, les trois protéines sont intégrées dans la membrane et suivent la voie de sécrétion vers le compartiment intermédiaire RE-Golgi. Les molécules E et M s'engagent dans plusieurs interactions moléculaires pour faciliter l'assemblage et la libération de nouvelles particules virales (Li et *al.*, 2005 ; Song et *al.*, 2019 ; Tai et *al.*, 2020).

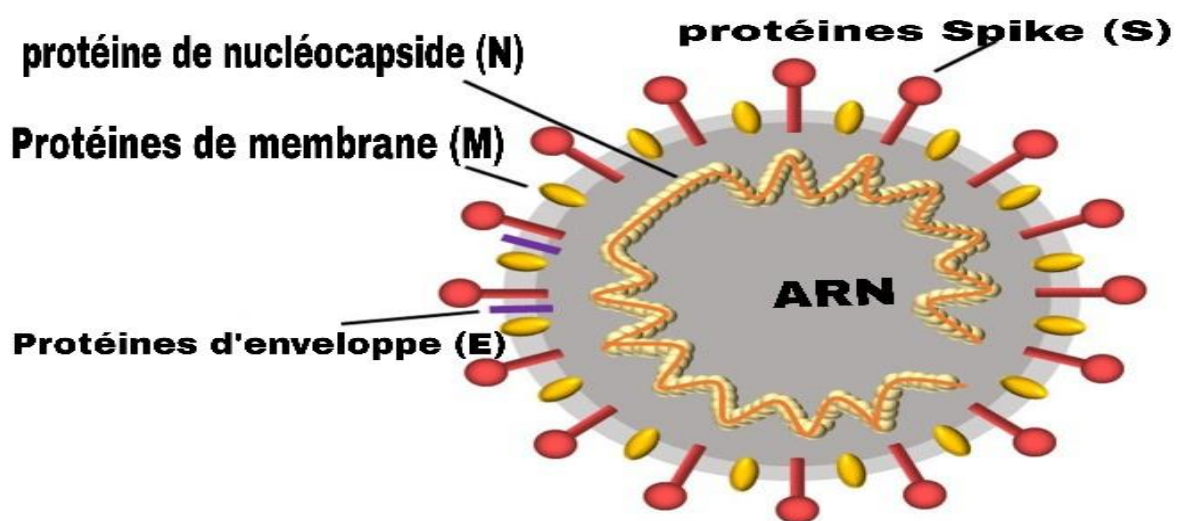


Figure 3. Structure du coronavirus 2 (Gupta et *al.*, 2019)

- **Protéine de nucléocapside (N)**

La protéine nucléocapside (N) se lie aux ARNs génomiques dans une conformation perles-sur-une-chaîne. Contrairement aux protéines S, E et M, la protéine N reste dans le cytosol de la cellule hôte après la traduction, où elle se lie aux ARNs génomiques pour former de nouvelles nucléocapsides (Fehr et *al.*, 2015). Ces nucléocapsides voyagent vers le RE-golgi et sont utilisées pour l'assemblage de nouvelles particules virales centrales. La protéine N contient deux domaines fonctionnels, appelés domaine N-terminal (NTD) (IPR037195) et domaine C-terminal (CTD) (IPR037179), tous deux capables d'interagir avec l'ARN (Liu et *al.*, 2004 ; Sainz et *al.*, 2005)

2.3. Voix de transmission du virus

La dynamique de transmission des maladies infectieuses dépend essentiellement des hôtes réservoirs (**Figure 4**), qui peuvent entretenir le pathogène avec une infection modérée ou asymptomatique dans la population (Li *et al.*, 2020). Les coronavirus se trouvent largement chez les chauves-souris, les porcs, les vaches et plusieurs autres espèces. Des rapports antérieurs suggèrent également que ce virus est également présent chez les oiseaux (Chaming *et al.*, 2020). Une analyse phylogénétique moléculaire a montré que le virus voisin du SRAS-CoV-2, le RaTG13provenant de chauves-souris présente une similitude de 96%(Li *et al.*, 2020). Sur la base des données moléculaires, en plus de sa localisation au niveau du liquide oropharyngé et des poumons, ce virus a été également isolé au niveau du visage et du sang (Bailey *et al.*, 2018). Cette observation prouve que le SRAS-CoV-2 est transmis par gouttelettes d'homme à homme et pourrait aussi se faire par voie orofécale (Bailey *et al.*, 2018).

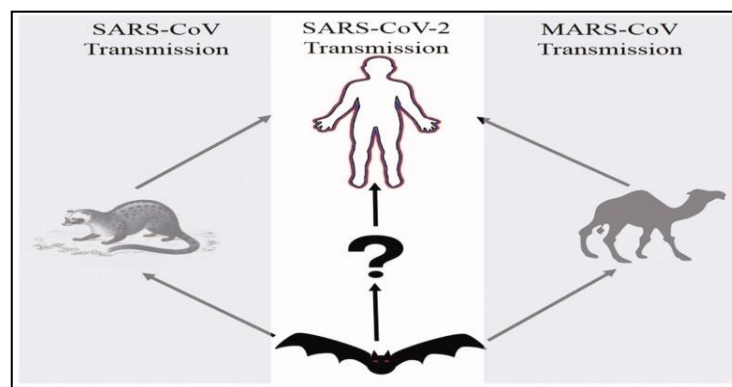


Figure 4. Modèle de transmission du SARS-Coronavirus (SARS-CoV), MERS-Coronavirus (MERS-CoV) et le nouveau coronavirus (SARS-CoV-2) (Li *et al.*, 2020)

Ce mode de transmission est très courant chez les oiseaux. En effet, les oiseaux migrateurs jouent un rôle très important dans la dissémination des virus de la grippe aviaire à partir de différentes parties du globe lors des migrations saisonnières (Bailey *et al.*, 2018). D'autant plus que les coronavirus tels que le SARS-CoV humain et le CoV SL-CoVZXC21 de chauve-souris utilisent l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) comme récepteur au niveau des cellules hôtes. La comparaison du gène *ace2* de différentes espèces aviaires suggèrent la conservation de la séquence protéique chez la plupart des oiseaux (Li *et al.*, 2003).

Aussi, l'examen des résidus d'interaction du domaine de liaison au récepteur (RBD) de la protéine de pointe du SRAS-CoV-2 avec les résidus critiques d'ACE2 de différentes espèces entre autres l'homme, la poule domestique et le canard colvert a permis de montrer la conservation des séquences par rapport à son homologue humain (Chaming *et al.*, 2020).

Néanmoins, il n'y a pas de preuve expérimentale de l'existence d'une infection par *bêta*coronavirus chez les oiseaux (Cui *et al.*, 2019). Alors qu'une étude récente a montré la présence significative de l'*alpha* et *gamma*coronavirus chez les canards,

les oiseaux de rivage, et les hérons en Australie (Chamings *et al.*, 2018). Ces observations nous permettent de croire que les oiseaux sont moins sujets à l'infection par les *bétacoronavirus*. Par conséquent, les risques de propagation du SRAS-CoV-2 par les oiseaux de meurent faibles sous sa forme actuelle.

2.4/.Mode d'action du virus

Lors de la reconnaissance du récepteur de la cellule hôte, la particule virale pénètre dans la cellule hôte libérant son ARN génomique de sens positif. Les ribosomes hôtes traduisent les polyprotéines pp1a et pp1ab, qui s'auto-clivent pour produire les protéines non structurales (Nsps) qui s'assemblent dans le complexe réplicase-transcriptase (RTC) et génèrent les ARNm pour la synthèse des protéines structurales et accessoires, ainsi que les ARN génomiques de sens positif par réplication. Les particules virales du noyau sont assemblées dans des vésicules lisses dérivées du compartiment intermédiaire réticulum endoplasmique-Golgi (ERGIC). La descendance virale est finalement libérée par exocytose (Sola *et al.*, 2015).

Un certain nombre d'études ont démontré que les séquences de SARS-CoV-2 et SARS-CoV semblent être homologues avec des protéines S similaires qui ont de fortes affinités de liaison avec le récepteur de cellule humaine ACE2 (Ren *et al.*, 2020 ; Xu *et al.*, 2020). Par conséquent, les cellules exprimant ACE2, y compris les cellules alvéolaires pulmonaires de type II (AT2), peuvent servir de cellules cibles primaires qui sont sensibles à l'infection par le SRAS-CoV-2 (Zhang *et al.*, 2020). La distribution de l'expression du récepteur ACE2 est cruciale pour identifier les cellules cibles afin de fournir des preuves de la distribution de l'infection par le SRAS-CoV-2 dans tout le corps. L'ACE2 était fortement exprimée dans les cellules alvéolaires, épithéliales de l'œsophage, de l'iléon et du côlon (Zhang *et al.*, 2019). Les chercheurs ont utilisé les dernières données de séquençage d'ARN unicellulaire pour analyser l'expression de l'ACE2 dans les systèmes respiratoire, cardiovasculaire, digestif et urinaire. Les résultats ont démontré que les cellules du cœur, de l'œsophage, des reins, de la vessie et de l'iléon présentaient une expression similaire ou supérieure d'ACE2 par rapport à celle des cellules AT2, ce qui suggère que ces organes y compris les poumons pourraient être à risque d'infection par le SRAS-CoV-2(Zou *et al.*, 2020).

L'ACE2 est une enzyme essentielle du système rénine-angiotensine (RAS) qui joue un rôle important dans la régulation de la pression artérielle et du maintien de l'homéostasie des électrolytes et des fluides. L'ACE2 protège l'individu contre des dommages aigu graves du poumon qui peut être déclenché par une septicémie, l'aspiration acide, le syndrome respiratoire sévère aigu sévère (SRAS) et la grippe aviaire létale causé par le virus H5N1 et H7N9 (Kuba *et al.*, 2005 ; Zhao *et al.*, 2020 ; Zou *et al.*, 2020). De plus, des études récentes ont montré que l'enzyme ACE2 régule négativement les réponses inflammatoires au cours des infections bactériennes ou virales (Sodhi *et al.*, 2019).

L'infection par le SRAS-CoV-2 utilise l'ACE2 pour l'attachement viral et l'entrée ultérieure dans le cytosol. Par conséquent, une réplication rapide du SRAS-CoV-2 peut réduire l'expression à la surface de l'ACE2 dans le tissu pulmonaire, ce qui peut entraîner une intensification supplémentaire de l'inflammation et de la gravité de la maladie (Glowacka *et*

al., 2010). Une étude récente a révélé que le tabagisme est associé à une expression plus élevée de l'ACE2 par rapport aux non-fumeurs, ce qui peut être l'une des raisons de la vulnérabilité de certaines populations à cette nouvelle infection par le SRAS-CoV-2 (Cai *et al.*, 2020 ;Liu *et al.*, 2017).

2.5. Symptômes et manifestations clinique

Les coronavirus infectent principalement le système respiratoire et digestif (Wang *et al.*, 2020). Les symptômes les plus fréquents vont de manifestations légères et spontanément résolutive (Rhume associé à de la fièvre ou de la diarrhée) jusqu'aux symptômes graves tels qu'une pneumonie sévère avec des lésions rénales ou une atteinte cardiaque et même la mort (Chen *et al.*, 2020 ; Wang *et al.*, 2020 ;).

Le système respiratoire inférieur subit des dommages plus importants que le système respiratoire supérieur (Loeffelholz *et al.*, 2020). Un certain nombre d'études ont indiqué que les patients atteints d'une infection par le SARS-CoV-2 présentaient une pneumonie et divers symptômes cliniques, notamment de la fièvre, de la toux et de la fatigue (Zhao *et al.*, 2020 ; Chai *et al.*, 2020). Selon une étude réalisée à Hong Kong, les premiers échantillons de salive de patients infectés sont positifs lors de l'admission (Lin *et al.*, 2020), par la suite la charge virale dans ce même type d'échantillon montre une tendance à la baisse (Fan *et al.*, 2020).

Les patients atteints d'une infection à coronavirus peuvent également présenter des diarrhées et des symptômes gastro-intestinaux (Tian *et al.*, 2020). Bien que certains patients aient présenté des affections cardiaques et rénales, il existe un manque de données concernant l'atteinte de ces organes. La liaison des coronavirus aux récepteurs ACE2 des cellules tubulaires, provoquent une cytotoxicité et une baisse anormale de la fonction rénale (Drosten *et al.*, 2003 ; Peiris *et al.*, 2003).

2.6/ Les différents variantes du SARS-CoV-2

Malgré l'existence d'une activité de relecture et de correction lors de la réplication du génome viral, le taux de substitution/nucléotide/génome/an est de l'ordre de 8.10^{-4} (MacLean *et al.*, 2020). Les modifications du génome viral peuvent toucher la structure des différentes protéines, les conséquences les plus importantes sont celles qui modifient la partie codante de la protéine spike. La modification de structure de cette molécule est susceptible d'augmenter l'affinité de la protéine spike pour l'ACE2 et dès lors l'infectiosité du variant expliquant son émergence ou bien de modifier l'efficacité de la réponse immunitaire contre le virus (Jin *et al.*, 2021 ; Mc Mahan *et al.*, 2021).

L'une des premières mutations, apparue en février 2020, a été la D614G qui provoque un changement de conformation majeur du domaine S1 de la protéine spike induisant ainsi une augmentation considérable de l'infectiosité virale (Gobeil *et al.*, 2021). Pratiquement toutes les souches circulant à ce jour sont porteuses de cette mutation. Parmi les variantes d'intérêt du SARS-CoV-2 circulant actuellement dans le monde (Centre national des références des infections respiratoire, France., 2021).

Il existe quatre variantes du virus SARS-CoV-2 qui concentrent tout particulièrement l'attention des scientifiques et des autorités sanitaires internationales : le variant B.1.1.7 (dit « anglais »), le variant B.1.351 (dit « sud-africain »), le variant P1 (dit « brésilien »), ainsi que le variant B.1.1.7 ayant acquis la mutation E484K (Faria et al., 2021 ; Naveca et al., 2021 ; Public Health England., 2020). Les mutations présentes chez les variantes B.1.351 et P.1 impliquent notamment la protéine spike et se localisent au niveau des résidus K417N, E484K et N501Y, qui font partie du domaine d'interaction de la protéine spike avec l'ACE2 et la cible privilégiée des anticorps neutralisants (Wang et al., 2021 ; Wibmer et al., 2021).

La lignée, B.1.617, a été détecté dans l'ouest de l'Inde en octobre ou le variant « Delta ». Il est qualifié de "double mutant" parce qu'il est notamment porteur de deux mutations préoccupantes au niveau de la protéine de pointe ("spike") du virus Sars-CoV-2 ; La première, E484Q, est proche de celle déjà observée sur les variants sud-africain et brésilien (E484K), soupçonnée d'entraîner une moindre efficacité de la vaccination et un risque accru de réinfection. La seconde, L452R, est également présente dans un variant repéré en Californie, et pourrait être capable d'entraîner une augmentation de la transmission. C'est la première fois qu'on les repère ensemble sur un variant ayant une diffusion importante (OMS., 2021).

Tableau I. Principales mutations et caractéristiques majeures des variants préoccupants du SARS-CoV-2 (Public health., 2020)

Dénomination du variant	Pays d'origine	Mutations	Caractéristiques
B.1.1.7	Royaume-Uni Septembre 2020	S: del69-70 HV, del144Y, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H. ORF1ab : T1001I, A1708D, I2230T, del3675-3677 SGF ORF8 : Q27stop, R52I, Y73C N : D3L, S235F	Infectiosité augmentée. Augmentation probable du risque d'hospitalisation et de décès.
B.1.1.7 + E484K	Royaume-Uni Décembre 2020	S : del69-70 HV, del144Y, E484K, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H. ORF1ab : L730F, T1001I, A1708D, I2230T, del3675-3677 SGF ORF8 : Q27stop, R52I, Y73C N : D3L, A173V, S235F, A398T.	En cours d'investigation
B.1.351	Afrique du sud Octobre 2020	S : L18F (selon la lignée), D80A, D215G, del242-244	Echappement partiel aux anticorps

		LAL, R246I (selon la lignée), K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V. ORF1ab : T265I, K1655N, K3353R ORF3 : Q57H, S171L E : P71L N : T205I	neutralisants. Augmentation probable du risque de la mortalité hospitalière.
P.1	Brésil Décembre 2020	S : L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, K417T, E484K, N501Y, D614G, H655Y, T1027I, V1176F ORF1ab : S1188L, K1795Q, del3675-3677 SGF, E5665D ORF3a : C174G ORF8 : E92K, ins28269-28273 N : P80R	Echappement partiel aux anticorps neutralisants, infectiosité augmentée, réinfections observées Pas d'impact décrit sur la sévérité de l'infection
A.27 HMN.19B	France Janvier 2021	S : L18F, L452R, N501Y, A653V, H655Y, Q677H (selon la lignée), D796Y, G1219V Mutations sur les autres ORF non précisées	
B.1.525 Pango-lineage	Angola, Royaume-Uni Décembre 2020	S : Q52R, A67V, del69-70 HV, del144 Y, E484K, D614G, Q677H, F888L ORF1ab : del3675-3677 SGF E : L21F, I82T	
B.1.526	Etats-Unis New York Novembre 2020	S : L5F, T95I, D253G, S477R (selon la lignée), E484K (selon la lignée), D614G, A701V ORF1ab : del3675-3677 SGF, Q1011H ORF3a : P42L N : P199L, M234I ORF8 : T11I	En cours d'investigation
B.1.616 (dérivé du clade 20C)	France Mars 2021	S : H66D, G142V, Y144, D215G, V483A, D614G, H655Y, G669S, Q949R, N1187DORF6: del23-31 KVSINWLDY	En cours d'investigation Présence faible au niveau naso-pharyngé. Nécessité de prélèvement profond des voies respiratoires
B.1.427 et B.1.429	Etats-Unis Juillet 2020	S : S13I, W152C, L452R, D614G. ORF1a : I4205V ORF1b : D1183Y	Infectiosité augmentée

P.2	Brésil Juillet 2020	S : E484K, D614G, V1176F	En cours d'investigation
P.3	Philippines Janvier 2021	S : del141-143 LGV, R214L, del243-244 AL, Y265C, E484K, N501Y, D614G, P681H, E1092K, H1101Y, V1176F. N : G204R, R203K, NS3 : G49V NS8 : K2Q NSP3 : D736G NSP4 : L438P NSP6 : D112E NSP7 : L71F NSP12 : P323L NSP13 : L280F, A368V, S80G	
B.1.617	Inde Octobre 2020.	Deux substitutions dans le domaine de liaison des récepteurs cellulaires (L452R et T478K). Substitution près du site de clivage S1 / S2 par la furine (P681R) Substitution (T19R) et délétion (157-158del) dans le domaine antigénique NTD.	

3. Diagnostic de l'infection

Depuis le début de l'épidémie et partout dans le monde, le diagnostic repose sur la biologie moléculaire avec la recherche du génome viral par amplification de gènes spécifique à ce virus. Cependant, de plus en plus de tests sont actuellement proposés dans le but d'identifier plus rapidement les foyers de contagions, d'élargir le dépistage et de suivre le traitement. Il s'agit des tests antigéniques et sérologiques permettant de détecter soit les antigènes viraux ou bien les anticorps anti-SARS-CoV-2 de type IgM et IgG (Tian *et al.*, 2019).

3.1. Recherche du SARS-CoV-2 par RT-PCR en temps réel

La technologie de la PCR en temps réel est basée sur la détection et la quantification d'un «reporter» fluorescent. L'augmentation du signal fluorescent est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés durant la réaction de PCR. En observant la quantité de fluorescence émise à chaque cycle, il devient possible de suivre la réaction PCR durant sa

phase exponentielle où la première augmentation significative dans la quantité d'amplicons est en corrélation directe avec la quantité initiale de la matrice originale cible (template). Plusieurs instruments de PCR en temps réel sont présentement sur le marché. Ces appareils utilisent généralement un système en tubes fermés et la quantification ne requiert aucune manipulation post amplification, ce qui minimise ou élimine les problèmes de contamination par les amplicons suite à la réaction de PCR et réduit le temps d'analyse (Bustin, 2000). Le processus complet est donc automatisé du début à la fin rendant ainsi cette technologie intéressante pour des applications d'analyses à grande échelle (high-throughput) (Martell et *al.*, 1999).

Il existe deux principes généraux pour la détection quantitative des amplicons : les agents se liant à l'ADN double brin (**Figure 5**) (ex. SYBR Green I) et les sondes fluorescentes. Pour cette dernière catégorie, il existe quatre technologies principales : hydrolyse de sondes (Taqman assay) (**Figure 6**), hybridation de 2 sondes (HybProbes), balises moléculaires (Molecular Beacons) (**Figure 7**) et les amorces scorpion (Scorpion primers). Ces différentes technologies de détection auraient une sensibilité équivalente. Cependant, leur technologies présentent des différences au niveau de la spécificité (Bustin et *al.*, 2000).

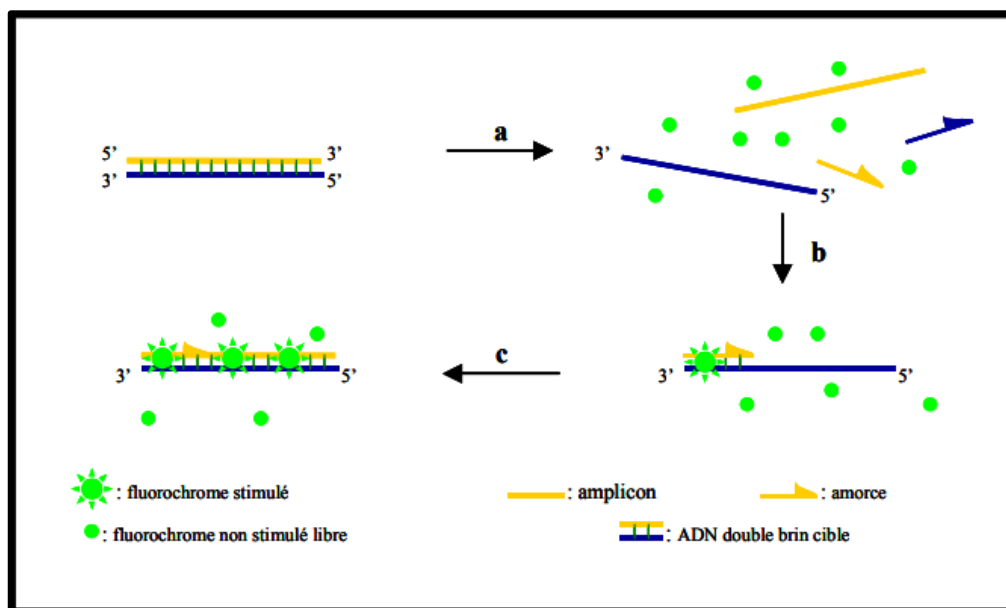


Figure 5. Agents se liant à l'ADN double brin (Double-stranded DNA binding dyes). **(a)** lors de la dénaturation, le SYBR Green I libre exhibe peu de fluorescence. **(b)** À la température d'appariement, quelques molécules se lient au double brin d'ADN naissant résultant en une émission de fluorescence lors de l'excitation. **(c)** Durant la phase de polymérisation, de plus en plus de molécules se lient au brin naissant et l'accroissement de la fluorescence peut-être suivi en temps réel (Bustin et *al.*, 2000).

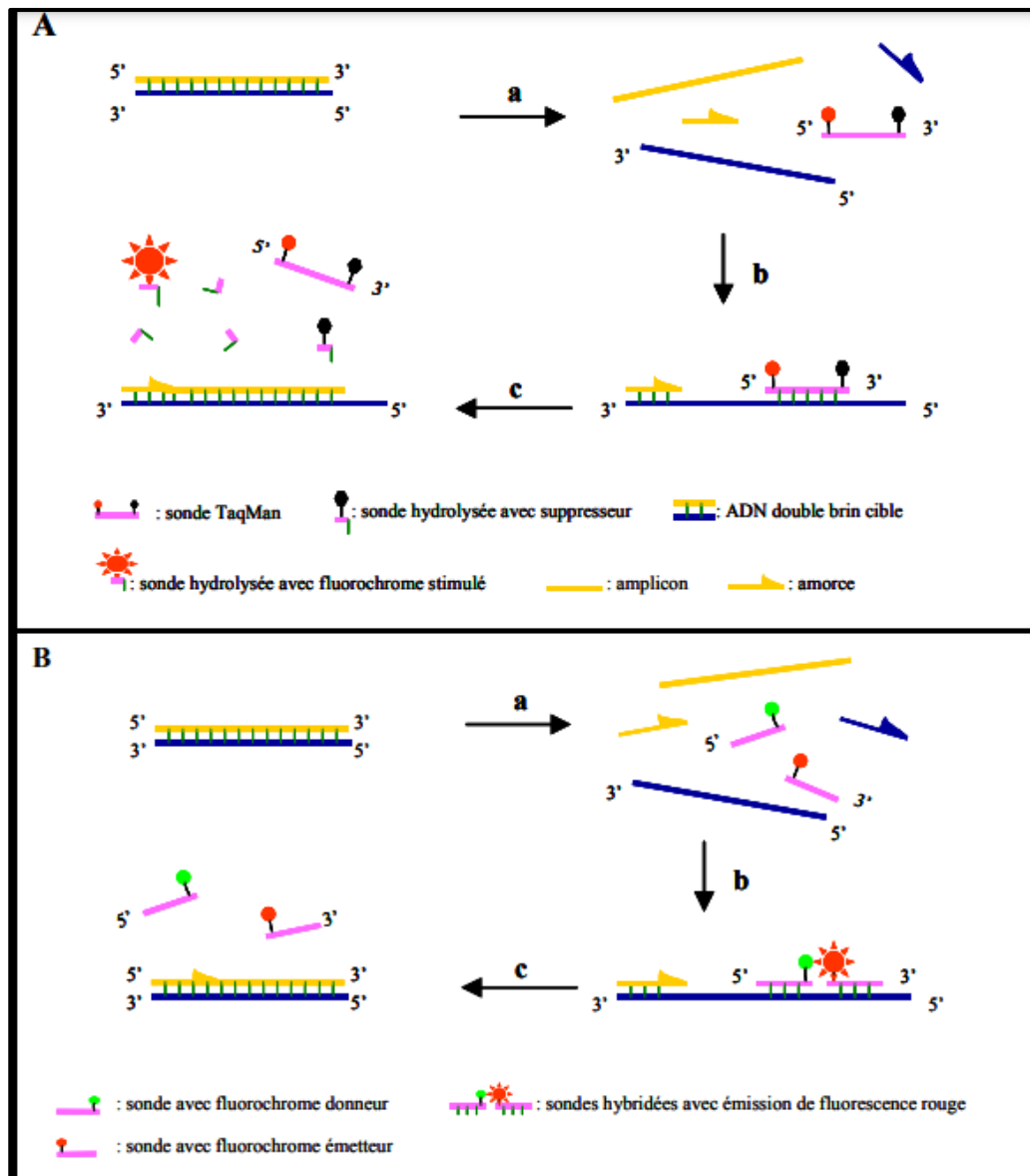


Figure 6. (A) : Hydrolyse de sondes (Hydrolysis probes : Taqman assay) (Bustin et *al.*, 2000). Lors de la dénaturation de l'ADN, la sonde se trouve libre en solution. Au moment de l'appariement, la sonde et les amorces s'hybrident à leurs séquences cibles respectives et la proximité des fluorochromes permet l'inhibition de la fluorescence. La polymérase déplace et hydrolyse la sonde. Le fluorochrome émetteur est libéré de l'environnement du supprimeur permettant ainsi l'émission de la fluorescence.

(B): Hybridation de 2 sondes (Hybridation probes). Durant l'étape de dénaturation, les deux sondes demeurent séparées et en solution. Au moment de l'hybridation, les sondes s'hybrident à leurs séquences cibles respectives et la proximité des fluorochromes permet l'émission de fluorescence rouge par le principe FRET.

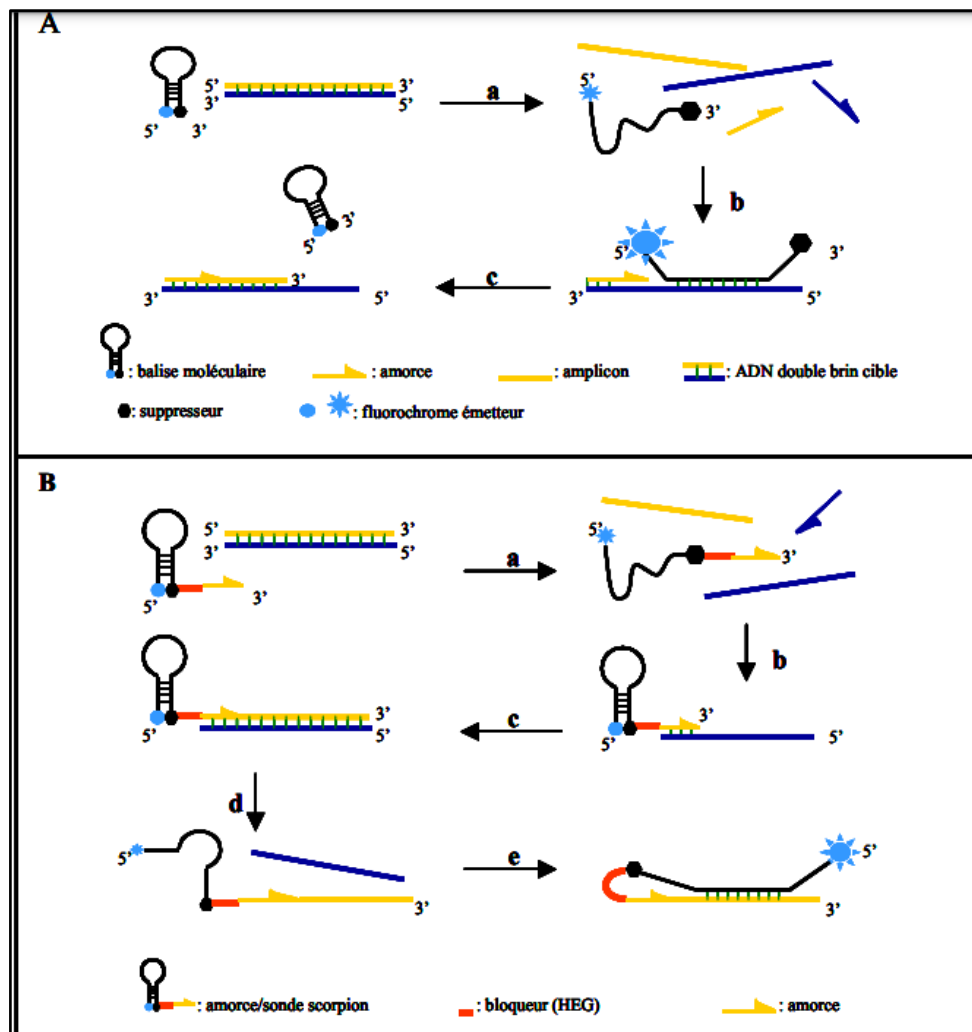


Figure 7. (A) : Balises moléculaires (Molecular Beacons). Durant l'étape de dénaturation, la balise moléculaire est sous forme relaxée et libre en solution mais la proximité des fluorochromes permet l'inhibition de la fluorescence. Au moment de l'hybridation de la sonde à sa séquence cible, le fluorochrome émetteur est suffisamment éloigné de son suppresseur pour permettre l'émission de fluorescence. A l'étape de polymérisation, la balise moléculaire retourne en solution sous forme d'épingle à cheveux.

(B) : Amorces scorpion (Scorpion primer). (a) Durant l'étape de dénaturation, la balise moléculaire est sous forme relaxée et libre en solution mais la proximité des fluorochromes permet l'inhibition de la fluorescence. (b) L'amorce scorpion se fixe à sa séquence complémentaire cible. (c) Polymérisation du brin complémentaire. (d) Dénaturation des brins d'ADN. (e) Hybridation de la séquence complémentaire de la partie balise moléculaire à sa séquence cible permettant l'émission de fluorescence.

3.2. Tests antigéniques

Les tests antigéniques permettent de détecter les protéines spécifiques du SARS-CoV-2. Ces tests peuvent être réalisés sur des prélèvements nasopharyngés et des prélèvements des voies respiratoires basses. Comme les tests de RT-PCR, ils assurent le diagnostic précoce de la maladie dès la phase aiguë (Dae-Gyun et *al.*, 2020)

Le test antigénique consiste en un test manuel, à lecture directe sur un petit boîtier en plastique, à l'image des tests de grossesse vendus en pharmacie basée sur la détection d'antigènes dans un échantillon à tester, poursuit le spécialiste. L'anticorps est déposé sur la membrane du test et va se lier aux antigènes du virus s'ils sont présents dans l'échantillon. Le résultat s'affiche en 30 minutes maximum sous forme de barres qui apparaissent sur le boîtier. Le test antigénique permet d'affirmer la présence du virus lorsque l'examen est positif. Son atout réside dans la rapidité de rendu du résultat (Mertens et *al.*, 2020).

Moins invasif, car moins profond que les tests par prélèvement nasopharyngé, les tests antigéniques nasaux sont adaptés dans le cas de dépistage régulier du Covid-19 et désormais recommandés en milieu scolaire. Aussi, ils sont utilisés dans les centres de soins pour l'identification précoce d'une infection au SRAS-COV-2 active non seulement chez les personnes présentant des symptômes, mais également chez les personnes contacts détectées isolément ou au sein de clusters (Mertens et *al.*, 2020).

Le test antigénique s'adresse en priorité :

Aux personnes symptomatiques : Les tests doivent être réalisés dans un délai inférieur ou égal à 4 jours après l'apparition des symptômes ;

Aux personnes asymptomatiques : lorsqu'elles sont personnes cas contacts, détectées isolément ou au sein d'un cluster. Les tests doivent être réalisés sous 24 h si le cas contact vit dans le même foyer que la personne contaminée ou si le cas contact ne vit pas avec la personne contaminée, le test est à réaliser 7 jours après le dernier contact avec la personne contaminée.

Les tests peuvent être utilisés pour des personnes asymptomatiques lorsque le médecin, le masseur-kinésithérapeute, la sage-femme, le chirurgien-dentiste, le pharmacien ou l'infirmier l'estiment nécessaire (Zhu et *al.*, 2019). Les tests antigéniques sont également utilisés dans le cadre de dépistages collectifs organisés au sein de populations ciblées (lycées, usines, hébergements collectifs, EPHAD...), en cas de suspicion de circulation particulièrement active du virus (potentiel de contamination, prévalence, etc.)

La mutation du variant anglais pourraient altérer l'efficacité des tests antigéniques ciblant uniquement la protéine de Spicule (S). Les tests antigéniques ciblant la protéine "N" ne sont pas impactés. Lorsqu'ils sont réalisés par prélèvement nasal, les tests antigéniques ont une spécificité de 99 % à 100 %, et une sensibilité de 81 % chez les personnes symptomatiques, toutefois comprise entre 50 % et 58 % chez les asymptomatiques (Mak et *al.*, 2020).

3.3. Test sérologique

Le test sérologique permet la détection des anticorps spécifiques (immunoglobulines : Ig) produits par l'organisme et dirigés contre le SARS-CoV-2. Ce test est réalisé sur un prélèvement sanguin et pourraient être utilisé pour identifier les patients ayant développé une immunité vis-à-vis du SARS-CoV-2 qu'ils aient été symptomatiques ou pas (Yang *et al.*, 2020). De ce fait, ce test permet de connaître le statut sérologique des personnes exposées (professionnels de santé). Il pourrait également avoir une utilité dans le recueil des données épidémiologiques liées au Covid-19 (patients réellement infectés, taux de mortalité...). Des chercheurs ont montré, que les anticorps IgA et IgM anti-protéine de la nucléocapside sont détectés dans un délai médian de cinq jours après l'apparition des premiers symptômes dans 85,4 % et 92,7 % des cas respectivement. Alors que les IgG sont détectées dans un délai médian de quatorze jours et dans 77,9 % des cas (Guo *et al.*, 2019).

Dans le cas spécifique du SARS-CoV-2, les données de la littérature ont montré que la production d'anticorps commençant après la première semaine d'infection et généralement détectable à partir de la seconde (Li *et al.*, 2020). Les anticorps de type IgM apparaissent à partir de J7 et les anticorps de type IgG à compter de J10 (**Figure 8**). La détection de ces anticorps témoigne donc d'une exposition au SARS-CoV-2. Cependant, on ignore jusqu'à présent la durée de persistance de cette protection éventuelle, sachant que plusieurs études ont rapporté une diminution du titre d'anticorps avec le temps (Zhao *et al.*, 2020). Cette décroissance est variable d'un individu à l'autre et dépend de l'antigène. Une étude a montré que la demi-vie des anticorps anti-nucléoprotéine serait de 52 jours avec 50 % des patients négatifs en six mois tandis que la demi-vie des anticorps anti-Spike serait de 85 jours (Ibarrondo *et al.*, 2020). Enfin, les concentrations d'anticorps sont plus faibles pour les personnes asymptomatiques que les patients ayant présenté des formes cliniques sévères (Granjean *et al.*, 2020).

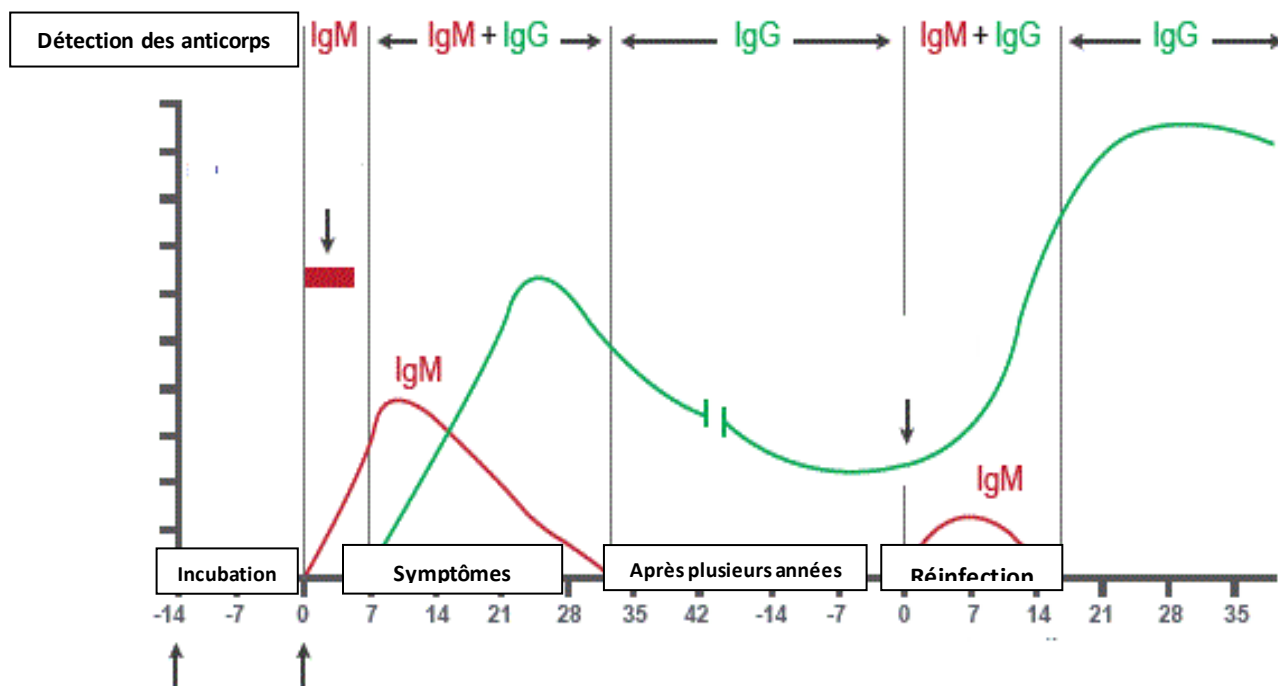


Figure 8. Evolution de la production des anticorps IgM et IgG au cours de l'infection par le SARS-CoV-2 (Guo *et al.*, 2019).

3.4. Autre moyen de diagnostic : Scanner thoracique

Le scanner thoracique joue un rôle pivot dans le tri des patients admis aux urgences, permettant de les hospitaliser au niveau des services « COVID » ou « non-COVID ». Le scanner initial doit être réalisé sans injection sauf dans le cas d'une suspicion d'embolie pulmonaire, dont le risque est assez élevé dans cette maladie (Pan *et al.*, 2020). L'atteinte scannographique typique de la pneumonie COVID-19 consiste en l'apparition de plages de verre dépoli bilatérales, périphériques sous-pleurales, souvent postérieures et basales (**Figure 9**). L'extension lésionnelle au scanner est corrélée à la sévérité clinique de la maladie et doit être mentionnée dans le compte-rendu d'examen (Yang *et al.*, 2019).

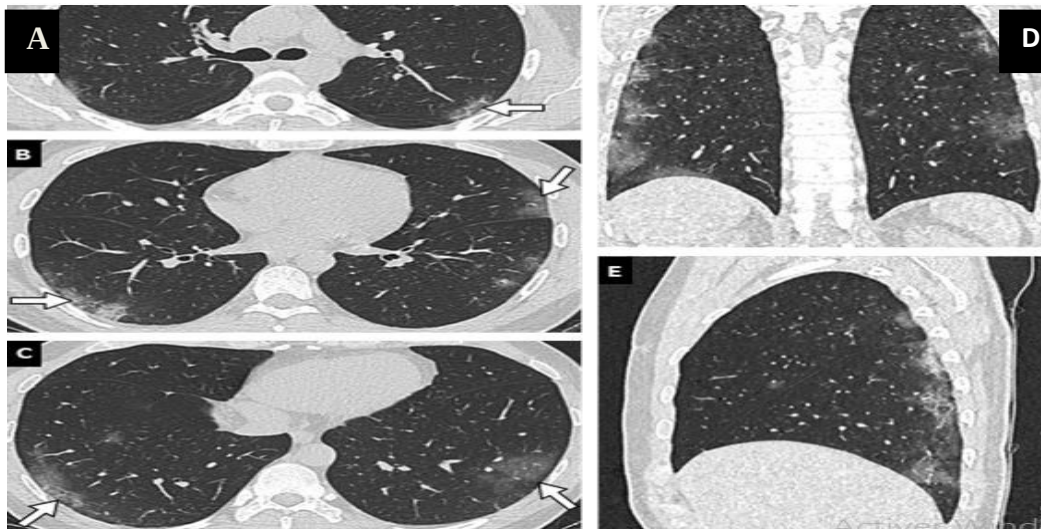


Figure 9.Scanner thoracique typique de pneumonie COVID-19 chez un homme âgé de 35 ans. (A, B, C) sans injection en coupes axiales, (D) coronale et (E) sagittale. Plages de verre dépoli (flèches) bilatérales, sous-pleurales, prédominant dans les régions postérieures (Bai et *al.*, 2019).

4. Prise en charge des personnes atteintes de la COVID 19

4.1 Protocol sanitaire

4.1.1. Mesures de prévention

- **Isolement du patient**

Les conditions d'isolement du patient à son domicile sont évaluées en prenant en compte son autonomie, les conditions locales permettant ou non un isolement effectif de la personne infectée, et la présence de personne(s) à risque de formes sévères de COVID-19 à domicile. Dans le cas où toutes ces conditions sont réunies, il faut informer le patient et son entourage des mesures de précaution vis-à-vis du SARS-CoV-2. En l'occurrence, l'importance de l'isolement du patient dans sa chambre avec des sanitaires idéalement privés. Les repas doivent être pris dans une pièce séparée. Aussi, l'importance de respecter la distanciation sociale ; de porter un masque chirurgical lors des contacts avec les soignants. La surveillance personnelle de la température ainsi que des signes respiratoires est nécessaire (Bausewein et *al.*, 2020)

- **Suivi des indicateurs biologiques**

L'apparition des signes cliniques de l'infection s'accompagne de perturbation du bilan biologique. Les personnes atteintes peuvent présenter les signes suivants (Wu et *al.*, 2020)

- Une lymphopénie : taux des lymphocytes totaux effondré $< 0.8g/l$
- Une thrombopénie : taux des plaquettes effondré $< 100/g/l$
- Une élévation de la CRP, atteignant des valeurs élevées (150 mg/L)
- Les D-dimères sont augmentés $\geq 0.05mg/l$

- Un Fibrinogène > 8g/l

4.1.2. Thérapie médicamenteuse

Le traitement administré aux personnes atteintes du coronavirus est purement symptomatique, et ajusté selon les signes cliniques présentés. Il n'existe pas de traitement ayant démontré à ce jour une efficacité sur la réduction des complications ou la durée des symptômes avec un niveau de preuve suffisant. Des essais cliniques en cours pourraient faire évoluer la prise en charge spécifique de la COVID-19 (Yang et *al.*, 2020).

En cas de fièvre ou de douleur, le paracétamol est le traitement de première intention. Il est recommandé de ne pas avoir recours aux anti-inflammatoires non stéroïdiens compte tenu de la possible association entre leur utilisation et la survenue d'une forme sévère de la maladie. Les patients avec des maladies chroniques ne doivent pas arrêter leur traitement sans avis médical. Il n'y a pas lieu de recommander un arrêt systématique des inhibiteurs de l'enzyme de conversion, du sintrom, des corticoïdes oraux ou inhalés utilisés en traitement de fond pour des maladies chroniques (Brian et *al.*, 2020).

Par ailleurs, les micronutriments comme les vitamines D et C ou le zinc sont essentiels au bon fonctionnement du système immunitaire et jouent un rôle fondamental dans le domaine de la santé et du bien-être nutritionnel. Il n'existe pas, à l'heure actuelle, d'orientations concernant l'emploi de suppléments en micronutriments comme traitement de la COVID-19 (Coutard et *al.*, 2020).

Plusieurs traitements médicamenteux expérimentaux sont activement étudiés dans le cadre d'essais cliniques à savoir :

- **La chloroquine** est un médicament indiqué dans le traitement et la prévention du paludisme (malaria) mais aussi en rhumatologie et en dermatologie pour traiter la polyarthrite rhumatoïde et certains lupus. L'hydroxychloroquine est une molécule dérivée de la chloroquine. Elle est utilisée depuis de nombreuses années dans le traitement de certaines pathologies auto-immunes. La chloroquine n'agit pas directement sur le virus, mais sur les cellules infectées elles-mêmes par le virus, en diminuant leurs capacités infectieuses. Elle pourrait également avoir un effet négatif sur la liaison entre le virus et son récepteur sur les cellules à infecter (Barbosa et *al.*, 2019).
- **L'azithromycine** est un antibiotique prescrit depuis le début de l'épidémie, alors que la Covid-19 est une infection virale, il aurait pour rôle un effet immuno-modulateur et un éventuel effet antiviral non démontré en clinique (Campochiaro et *al.*, 2020). En effet, les macrolides tels que l'érythromycine, la roxythromycine, la clarithromycine et l'azithromycine possèdent un effet immu-modulateur avec un mécanisme complexe aboutissant à une diminution des interleukines Il-6, Il-8 et TNF-alfa et une inhibition de la production de protéases et de radicaux libres oxygénés par les polynucléaires neutrophiles (Rosenberg et *al.*, 2020).

- **Les corticoïdes :** l'expérience tirée de l'utilisation des corticoïdes au cours des infections virales sévères, conduit à les déconseiller dans les formes sévères de grippe et leur utilisation chez les patients infectés par le MERS-CoV est associée à une surmortalité (Campochiaro *et al.*, 2020). Les recommandations de la Surviving Sepsis Campaign préconisent de ne pas administrer de corticoïdes pour une forme grave de Covid-19 sans SDRA. Pour les malades présentant un SDRA, une étude rétrospective suggère que l'utilisation de la corticothérapie systémique chez eux pourrait être bénéfique (Chorin *et al.*, 2020). Chez ces patients, il est recommandé de leur administrer de la Dexaméthasone à 6mg/j pendant une durée maximale de 10 jours (Wang *et al.*, 2020).
- **Les anticoagulants** sont des médicaments qui empêchent la formation de caillots sanguins nocifs. Cependant, ils pourraient provoquer des effets indésirables tels que des saignements. En plus des problèmes respiratoires, environ 16 % des personnes hospitalisées pour la COVID-19 ont des problèmes circulatoires, ce qui entraîne la formation de caillots de sang dans les artères, les veines et les poumons. Ces caillots de sang peuvent se détacher et se déplacer vers d'autres parties du corps, où ils pourraient provoquer des obstructions menant à des crises cardiaques ou des accidents vasculaires cérébraux. Près de la moitié des personnes atteintes de la COVID-19 sous une forme sévère, dans les unités de soins intensifs, pourraient développer des caillots dans leurs veines ou leurs artères. (Wit *et al.*, 2020). De ce fait, il est recommandé d'administrer du Lovenox lors de la première admission à l'hôpital pour la COVID-19, afin d'éviter la formation de caillots sanguins, plutôt que d'attendre de voir si des caillots sanguins se forment et de les traiter ensuite avec des anticoagulants (Tay *et al.*, 2020).

4.2. La vaccination contre la Covid-19

Le développement d'un vaccin est un processus complexe à haut risque d'échec. Pourtant, leur rôle est primordial dans la prévention des formes sévères de la maladie, des hospitalisations et des décès. Pas moins de 293 projets de fabrication de vaccins ont été inscrits et sont arrivés à des niveaux différents de développement : 223 vaccins sont en phase préclinique, 17 sont en phase I de développement clinique, 23 sont en phase II, 20 sont en phase III et 10 entre eux sont en cours d'utilisation (Jackson *et al.*, 2020).

Le point commun de tous ces vaccins c'est qu'ils stimulent le système immunitaire de façon à induire une protection spécifique contre le virus de la COVID, des différences existent quant à la technique utilisée. En effet, différentes technologies (aussi appelées plateformes) vaccinales sont actuellement utilisées. On peut les répartir en cinq catégories (Trovato *et al.*, 2019 ; Van Riel *et al.*, 2019).

4.2.1. Les différentes technologies vaccinales développées :

a- Les vaccins basés sur un virus inactivé ou atténué sont les plus couramment utilisés. Ils utilisent une forme de virus qui a été inactivée ou affaiblie pour ne pas provoquer de maladie

mais qui génère tout de même une réponse immunitaire. C'est le cas des deux vaccins chinois Sinopharm et Sinovac.(Trovato M et *al.*,2020 ;Van Riel D et *al.*,2020)

b- Les vaccins basés sur vecteur viral (non-répliquant) reposent quant à eux sur un « vecteur viral non réplcatif ». Cette technologie utilise un virus qui a été génétiquement modifié pour ne pas provoquer de maladie mais produit des protéines de coronavirus pour générer en toute sécurité une réponse immunitaire.On peut citer le Gamaleya Research Inst. (Sputnik V), AstraZeneca and Univ. Oxford, CanSino Biological Inc., Johnson & Johnson (Lemarchand M et *al.*,2021)

c- Les vaccins basés sur Sous-unité de protéine utilisent des fragments inoffensifs de protéines qui imitent le virus COVID-19 pour générer en toute sécurité une réponse immunitaire. Ces vaccins ont été développés par EpiVacCorona, et Novavax.(van Doremalen N et *al.*,2020)

d- Les vaccins basés sur un ADN utilisent un fragment d'ADN synthétique (plasmide) qui code pour un antigène du SARS-CoV-2. C'est le du vaccinInovio (Le Bihan O et *al.*,2011)

e-Les vaccins à ARN messenger consistent à injecter dans l'organisme non pas le virus mais des molécules d'ARN messenger, fabriqué en laboratoire. Cet ARN, encapsulé dans des particules de lipides, sans adjuvant chimique, ordonne aux cellules au niveau du site d'injection (principalement les cellules musculaires et les cellules du système immunitaire) de fabriquer une protéine spécifique du virus responsable de la COVID, ce qui activera une réponse immunitaire. Il est ensuite rapidement éliminé. L'ARN messenger ne pénètre jamais dans le noyau de la cellule et ne présenterait aucune action sur le génome. (Lindsay KE et *al.*,2019)

Typiquement, c'est le segment d'ARN du génome viral codant pour la protéine spike du virus (ou autre région antigénique) qui est préparée dans une suspension de nanoparticules lipidiques. Ces vaccins sont développés par : Pfizer / BioNTech, Moderna, Curevac.(Corbett KS et *al.*,2020)

4.2.2. L'efficacité des vaccins sur les différents variantes :

Les tests effectués en laboratoire tout comme les données épidémiologiques apportent des résultats rassurants quant à l'efficacité des vaccins sur les différentes variantes. Ce qui n'empêche pas de rester vigilant, afin d'éviter l'apparition de nouvelles souches incontrôlables (Pawelec et *al.*, 2020).

En effet, les vaccins anti-Covid actuellement disponibles et approuvés sont efficaces contre "tous les variantes du virus SARS-CoV-2". Des études réalisées en laboratoires montrent que le sang de patients immunisés neutralise parfaitement le virus quel que soit le variant, même s'il semble dans ce cas que la souche dite britannique soit mieux combattue que la souche sud-

africaine. Quant aux données épidémiologiques, elles montrent que les populations vaccinées exposées à de nouveaux variants n'ont pas développé de formes graves de la maladie (Daganet *al.*,2021).

Cela s'explique sans doute par le fait que le vaccin joue sur deux tableaux : il permet non seulement la production d'anticorps neutralisants, qui jouent le rôle de bouclier, mais aussi d'initier une mémoire cellulaire, qui constitue une seconde ligne de défense essentielle. "Un vaccin induit à la fois des anticorps qui vont bloquer l'entrée du virus dans les cellules, et des lymphocytes capables de reconnaître et tuer les cellules qui sont en train de fabriquer du virus (Clark et *al.*, 2020).

- Concernant le variant Alpha détecté au Royaume-Uni (B.1.1.7), il semble être neutraliser par les vaccins disponibles (AstraZeneca, Janssen, Pfizer et Moderna) qui sont actifs contre le variant ce variant dit Alpha. Pour le variant 20I/484K repéré aussi au Royaume-Uni qui présente la mutation 484K. Il est susceptible d'engendrer "une diminution d'efficacité" de la réponse immunitaire conférée par une vaccination ou par une contamination antérieure (Dunbar et *al.*,2021 ; Hall et *al.*,2021 ; Pritchard et *al.*,2020 ; Shrotri et *al.*,2021)

- Le variant Beta identifié en Afrique du Sud (B.1.351) également porteur de la mutation 484K, est le variant qui présente le risque le plus important d'abaissement de la protection vaccinale. Il semblerait que le vaccin d'AstraZeneca n'induit pas de réponse protectrice suffisante contre ce variant. Dans les territoires où ce variant Beta est significativement présent, l'OMS préconise donc de privilégier les vaccins de Moderna, Pfizer-BioNTech ou Janssen. (Abu-Raddad et *al.*,2021)

- Pour le variant Gamma repéré au Brésil (P.1) porteur de la mutation 484K, l'efficacité des vaccins paraît conservée mais diminuée (Chung et *al.*,2021)

- Concernant le variant Delta identifié en Inde (B.1.617.2), des études britanniques suggèrent une protection de l'ordre de 88% contre les formes symptomatiques issues de ce variant après deux injections du vaccin de Pfizer-BioNTech et de 60% pour le vaccin d'AstraZeneca. L'efficacité du vaccin de Moderna n'a toutefois pas pu être mesurée dans cette étude (Lopez Bernal et *al.*,2021) Quant au variant Kappa détecté aussi en Inde (B.1.617), là encore, les connaissances sont partielles. Des données préliminaires *in vitro* suggèrent une susceptibilité légèrement réduite aux anticorps induits par le vaccin de Pfizer-BioNTech. (Lopez Bernal et *al.*,2021).

Chapitre II: Matériel et Méthodes

Ce présent travail représente une comparaison des méthodes de diagnostic de la Covid 19 par RT-PCR en temps réel et avec les tests antigéniques, en mettant en évidence les avantages et les inconvénients de chacune d'entre elles.

1/. Matériel biologique

Le diagnostic des pneumonies virales telles que celles provoquées par le SRAS-CoV-2 implique la collecte d'un bon échantillon du patient et au bon moment. L'infection de la Covid 19 peut être détectée à partir de diverses sources respiratoires supérieures et inférieures (**Tableau II**) notamment la gorge, le nasopharynx(NP), les expectorations et le liquide bronchique (Charlton *et al.*, 2019 ; Falsey *et al.*, 2012 ; Gaunt *et al.*, 2010).

Les pneumonies virales n'entraînent généralement pas, la production d'expectorations purulentes. Ainsi, un écouvillon associé à un lavage nasopharyngé est généralement la méthode de prélèvement utilisée pour obtenir un échantillon à tester. Les échantillons nasopharyngés peuvent manquer une infection précoce ; un échantillon plus profond peut devoir être obtenu par bronchoscopie. Cependant, la collecte des expectorations et en particulier des lavages broncho-alvéolaire par bronchoscopie augmentent le risque de biosécurité pour les travailleurs de la santé par la création de gouttelettes d'aérosol (Gaunt *et al.*, 2010).

L'ARN du SRAS-CoV-2 est également détecté à partir d'échantillons de selles, d'urine et de sang, bien que généralement moins fiables que dans les échantillons respiratoires (Cheng *et al.*, 2004 ; Poissy *et al.*, 2014). Aussi, le sérum est une autre source de détection du SRAS-CoV-2. Cependant, seuls 15% des patients hospitalisés pour pneumonie ont un ARN détectable dans le sérum (Huang *et al.*, 2020). Cette source biologique est plutôt utilisée pour la détection des anticorps anti SRAS-CoV-2 qui sont produits par l'organisme suite à infection (Hanson *et al.*, 2020).

Tableau II. Différents types de prélèvement biologique réalisés chez des patients Covid 19+ en fonction des paramètres recherchés (Patrick *et al.*, 2020).

	Ecouvillon Nasopharyngé	Salive	Tache de sang séché
ARN -SARS-CoV-2	X	X	
IgG, IgM et IgA		X	X
Antigènes du SARS-CoV-2	X	X	

2/ Méthodes

2.1 Prélèvement nasopharyngé

Principe

Les tests PCR et antigéniques utilisent généralement des écouvillons nasopharyngés et oropharyngés pour l'examen d'échantillons des voies respiratoires supérieures afin de détecter le SRAS-CoV-2. La procédure appropriée pour obtenir un échantillon des parties du corps où le virus responsable de la COVID-19 s'accumule, comme le nez est d'une importance capitale (Marty et *al.*, 2020). Un bon prélèvement permet de minimiser les faux négatifs, dépend de la compétence et l'expertise de la personne qui exécute le geste (Patel et *al.*, 2020).

Protocol

L'approche la plus correcte pour réaliser un prélèvement nasopharyngé est d'insérer l'écouvillon et de le diriger de l'aile nasale vers le lobe de l'oreille (**Figure 10**); en suivant la direction du plancher de la fosse nasale jusqu'à ce que le nasopharynx soit atteint (ISS Working Group, 2020). L'utilisation de ces points repères peut empêcher l'obtention de faux échantillons négatifs.

Il semblerait que les échantillons nasopharyngés soient plus sensibles que les échantillons oropharyngés (Wang et *al.*, 2020 ; Zou et *al.*, 2020). Aussi, les écouvillons en nylon floqué seraient plus efficaces car ils peuvent collecter un plus grand volume d'échantillons par rapport aux écouvillons en coton, en polyester ou en rayonne (Daley et *al.*, 2006).

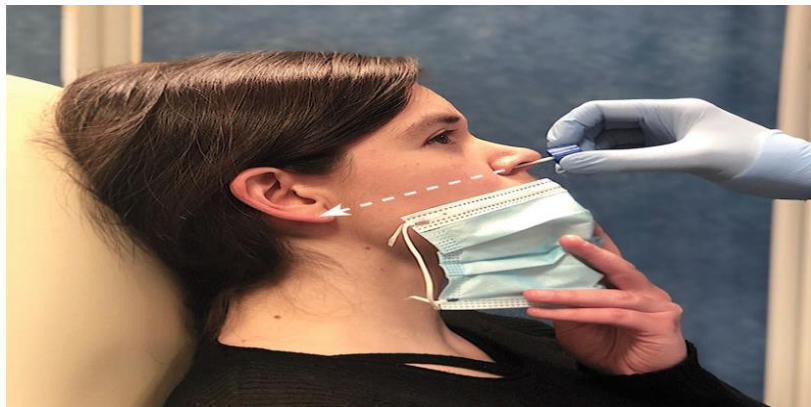


Figure 10. Prélèvement d'un échantillon sur écouvillon nasopharyngé (Marty et *al.*, 2020).

2.2. Diagnostic du COVID-19 par RT-PCR en temps réel

Principe

La RT-PCR est l'étalon-or pour la confirmation de la maladie COVID-19 dans les échantillons des voies respiratoires supérieures (sécrétion nasopharyngée et

oropharyngée). Plusieurs protocoles ont été publiés par l'OMS pour fournir un diagnostic approprié, aider à tester les populations et contribuer à contrôler la propagation de la maladie (Singh *et al.*, 2020 ; Wang *et al.*, 2020).

La RT-PCR en temps réel est basée sur la détection et la quantification d'un reporter fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons générés pendant la réaction de PCR (Poitras *et al.*, 2002). Cette technologie combine l'amplification avec la détection et la quantification d'un signal fluorescent. En observant la quantité de fluorescence émise à chaque cycle, il devient possible de suivre la réaction PCR durant sa phase exponentielle. L'intensité de la fluorescence à chaque cycle est proportionnelle à la concentration d'amplicons, le cycle seuil (Ct) représente le nombre de cycles requis où le signal d'émission de fluorescence est statistiquement et significativement plus élevé que la ligne de base (Tran *et al.*, 2008).

L'amplification quantitative en temps réel est précédée d'une extraction d'ARN des sécrétions nasopharyngée et oropharyngée, suivie d'une étape de transcription inverse pour convertir l'ARN en ADN complémentaire (ADNc) qui subira une amplification.

Protocol

1. Extraction des ARNs

L'ARN du virus doit être extrait après lyse complète des cellules prélevées et purification des protéines grâce à l'activité protéase et élution des acides nucléiques en solution. Pour l'extraction de l'ARN virale, il est préférable d'utiliser des méthodes de colonne filtrante ou de billes magnétiques de haute pureté (Hung *et al.*, 2020 ; Jo *et al.*, 2020).

2. RT- PCR

Contrairement à la PCR traditionnelle appliquée pour amplifier les séquences d'ADN cible, la RT-PCR est une technique d'amplification d'un fragment d'ARN spécifique suite à sa conversion en ADN complémentaire à l'aide de l'enzyme transcriptase inverse. La RT-PCR est réalisée en deux étapes :

- Dans la première étape, la molécule d'ARN est convertie par une réaction de transcription inverse (RT), catalysée par l'enzyme transcriptase inverse en une molécule d'ADNc.
- Deuxièmement, la molécule d'ADN est amplifiée grâce à la Taq polymérase suivant le schéma PCR classique (Calisher *et al.*, 2020 ; Chu *et al.*, 2020 ; Kelly-Cirino *et al.*, 2019 ; Wan *et al.*, 2020). Les régions d'ADN spécifiques au SRAS-CoV-2 qui sont ciblées pour la détection spécifique de ce virus sont : nucléocapside N, gènes E et ORF1ab, protéine multimérique nsp12, ARN polymérase ARN-dépendante, RdRp (**Tableau III**) (Ai *et al.*, 2020 ; Brukner *et al.*, 2020 ; Li *et al.*, 2020).

La réaction de polymérisation en chaîne est constituée d'une trentaine de cycles, chacun d'eux comportant trois étapes. Ces étapes sont réalisées dans un tube dans lequel tous les protagonistes de la réaction (l'ARN viral, les amorces, du tampon 10X, des dNTP 1 µM, du DTT 0,1 M, 200 U/µl de volume final de transcriptase reverse, 20 U de RNAsine) ont été

ajoutés. Le tube est placé dans un thermocycleur qui permet de monter le tube à la bonne température très rapidement (Vassias et *al.*, 2012).

Tableau III. Différents protocoles d'amplification par RT-PCR utilisés dans le monde (Singh et *al.*, 2020 ; Wang et *al.*, 2020)

Institution/Pays	Amorce	Méthode	Résultats
CDC chinois	ORF1ab, E et N	Trois RT-PCR simplex utilisant des amorces marquées par fluorescence	Limite de détection de l'ORF1ab est de 203 copies / ml Limite de détection du gène E est de 664 copies / ml Limite de détection du gène N est de 667 copies / ml
Institut Pasteur – France	Gène RdRp/ nCoV_IP2 Gène RdRp / nCoV_IP4	Deux RT-PCR simplexe ou une RT-PCR multiplexe avec des amorces fluorescentes	- 95% d'affirmation dans les échantillons contenant ~100 copies virales - La RT-PCR multiplex détecte 10 copies virales - Pas de réactivité croisée avec d'autres virus
CDC – USA	2019-nCoV_N1 2019-nCoV_N2 2019-nCoV_N3	Trois singleplex RT-PCR utilisant des sondes fluorescent	- 95% d'affirmation dans les échantillons contenant - 100,5 copies d'ARN/μL avec extraction automatique de l'ARN et 100 copies d'ARN/μL avec extraction manuelle de l'ARN. - copies d'ARN/μL en utilisant l'extraction manuelle d'ARN.
Charité Germany	RdRP_SARSr E_Sarbeco	Deux singleplex RT-PCR, le dépistage effectué par l'amplification du gène E confirmé par RdRP	La limite de détection la plus basse de RdRp et E_Sarbeco 3,8 et 5,2 copies/réaction, respectivement.
HKU -Hong Kong	ORF1b-nsp14 Gene N	Amplification du gène N suivie d'une confirmation en amplifiant l'ORF1b-nsp14.	Des valeurs de Ct du gène N jusqu'à 35,43 sont positives (15 copies / réaction). Et Ct= 38.97 positif pour l'ORF1b Ct jusqu'à 38,97 (1,5 copies / réaction)

- **Dénaturation de l'ADN:** permet de séparer par la chaleur les deux brins d'ADN. Le mélange réactionnel est amené à 94 °C, température à laquelle les deux brins d'ADN se séparent. (Vassias *et al.*, 2012)

- **Hybridation des amorces :** lors de cette étape, la sonde s'apparie à la séquence d'ADN qui lui est complémentaire. Une amorce spécifique se fixe au niveau de la région à amplifier. Celle-ci est marquée par un fluorophore. La cinétique d'émission de la fluorescence est proportionnelle à la quantité d'amplicons produits au cours de la réaction (La détection peut se faire à l'aide de **SYBR green**, composé organique fluorescent qui se lie aux acides nucléiques, Taqman ou FRET), L'hybridation des amorces s'effectue à une température de 70°C pendant 1 à 2 min.

- **L'élongation des amorces** est effectué par la Taq polymérase qui est utilisée pour allonger les amorces en y incorporant des bases complémentaires de la séquence matrice. Cette opération est réalisée à 72 °C pendant 2 min, température optimale pour l'action de la polymérase. Elle synthétise l'ADN de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' (Vassias *et al.*, 2012).

Pour la lecture des résultats, il y a un certain nombre de points à considérer. L'une des valeurs clés de la PCR en temps réel est le seuil de cycle (Ct), qui se produit lorsque la courbe d'amplification franchit la ligne de seuil de l'instrument. Plus la valeur seuil du cycle (Ct = 30-35) est élevée, moins il y a d'ARNm dans l'échantillon, car il faut plus de temps pour amplifier le nombre de copies d'ARNm nécessaires pour une fluorescence intense. Si la valeur Ct est faible (10-15), cela indique que le gène est exprimé très activement. Habituellement, l'échantillon de contrôle interne a une valeur Ct inférieure à celle des gènes à l'étude (Brukner *et al.*, 2020 ; Hung *et al.*, 2020 ; Jo *et al.*, 2020 ; Khailany *et al.*, 2020).

Remarque :

En plus de la détermination qualitative de l'ARN dans les infections virales, une technologie associée à la qPCR pour quantifier le gène exprimé est également souvent utilisée. Cette option combinée, appelée RT-PCR quantitative en temps réel (qRT-PCR ou RT-qPCR), est la modification la plus informative et la plus précise de la PCR «classique» pour la détection et la quantification du niveau d'ARN (Alcoba-Florez *et al.*, 2020 ; Hung *et al.*, 2020 ; Wan *et al.*, 2020). Cette méthode est quantitative. Pendant le processus de PCR, l'échantillon est constamment surveillé par un capteur qui enregistre les signaux fluorescents à chaque cycle de la réaction. Les courbes d'amplification résultantes sont utilisées dans une analyse plus approfondie. Elles peuvent être utilisées pour estimer l'intensité de l'expression de certains gènes et la charge virale (Brukner *et al.*, 2020 ; Hung *et al.*, 2020).

2.3. Diagnostic de la COVID-19 par les tests antigéniques

Principe :

Ce type de test permet de mettre en évidence la présence des protéines virales à l'aide d'anticorps spécifiques de ces protéines couplés à une enzyme permettant une réaction

colorimétrique sur une languette, comme pour un test de grossesse disponible en pharmacie (Lambert-Niclot *et al.*, 2020).

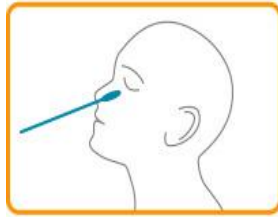
Le test antigénique est une technique moins sensible que la RT-PCR en temps réel. Cependant la rapidité d'obtention du résultat est un atout majeur pour casser les chaînes de transmission et isoler les cas positifs.

Cette analyse se déroule sous la forme d'un prélèvement nasopharyngé qui est placé dans une solution d'extraction du virus, appelée tampon. Le mélange obtenu est déposé sur la plaquette du test qui contient des anticorps. En présence d'antigènes du coronavirus, le complexe chimique va provoquer l'apparition d'une bande colorée après 15 minutes sous forme de bandes de couleur (**figure 11**) (Huang *et al.*, 2019).

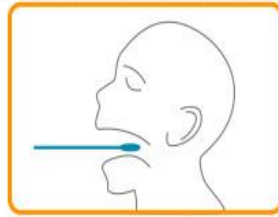
Protocol :

- Avant d'ouvrir l'emballage de tous les kits laissez tous les composants de la trousse à une température comprise entre 15-30°C pendant 30 minutes. Il faut vérifier que tout le matériel nécessaire soit présent dans la trousse ainsi que la date d'expiration de la trousse.
- Commencer par retirer la cartouche de son emballage et la placer sur une surface plane, horizontale et propre. Ne pas utiliser la cartouche s'il y a présence d'une ligne contrôle (C) ou test (T) avant l'exécution de l'analyse. Chaque cartouche doit porter l'identifiant du patient.
- Remplir le tube d'extraction avec la solution tampon fourni dans le kit. Par la suite, il faut effectuer un prélèvement nasopharyngé par écouvillonnage. Faire tourbillonner délicatement la pointe de l'écouvillon dans le tampon à l'intérieur du tube d'extraction puis faire sortir l'écouvillon en pressant le tube d'extraction avec vos doigts. Finir l'opération en cassant l'écouvillon au point de rupture et fermez le capuchon du tube d'extraction. L'écouvillon peut être conservé dans le tube d'extraction avec le tampon pour un maximum de deux heures suivant le prélèvement à température ambiante.
- Ouvrez le capuchon de la buse de descente au bas du tube d'extraction. Et distribuer verticalement 5 gouttes d'échantillon dans le puits d'échantillon (S) de la cartouche. Ne pas manipuler ni déplacer la cartouche tant que le test n'est pas terminé et prêt pour la lecture.
- Après un temps de réaction de 15 minutes, on procède à la lecture des résultats. La présence d'une ligne contrôle (C) en présence de la ligne test (T) dans la fenêtre de résultat indique un résultat positif. L'intensité des lignes et l'ordre d'apparition des lignes ne modifient pas l'interprétation. Par contre, la présence d'une ligne contrôle (C) en absence de la ligne test (T) dans la fenêtre de résultat indique un résultat négatif. L'absence de ligne contrôle (C) dans la fenêtre de résultat indique un résultat invalide.

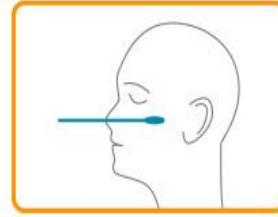
3 TYPES DE PRELEVEMENTS :



Prélèvement nasal

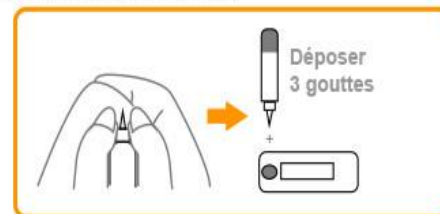


Prélèvement oropharyngé



Prélèvement nasopharyngé

PREPARATION DE L'ECHANTILLON :



LECTURE DES RESULTATS

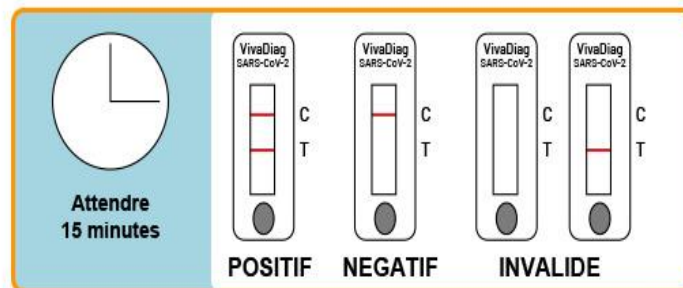


Figure 11. Les étapes de fonctionnement des tests antigéniques Covid19 (Huang *et al.*, 2019).

Chapitre III : Discussion

L'un des problèmes les plus importants dans la stratégie de contrôle de la nouvelle infection à coronavirus est la nécessité d'un dépistage de masse en laboratoire, des populations exposées à un risque élevé d'infection. En effet, le diagnostic rapide et de haute qualité des patients infectés par le SRAS-CoV-2 est devenu la priorité absolue pour éliminer la pandémie et prendre des mesures de quarantaine (DeKosky et *al.*, 2020 ; ECD., 2020 ;Guan et *al.*, 2020 ; OMS, 2020). Dans ces conditions, la création d'outils de diagnostic rapides, efficaces et peu coûteux est un élément nécessaire pour la lutte contre cette pandémie.

1. Fiabilité des résultats des méthodes de diagnostique

Les différents tests de dépistage de la Covid-19 existants peuvent être divisés en deux catégories : ceux qui détectent directement le virus (son génome ou ses antigènes) et ceux qui détectent la réponse immunitaire humaine à sa présence (anticorps IgM, IgA et IgG) (Boris et *al.*, 2020).

Les principales caractéristiques analytiques des tests de laboratoire sont leur sensibilité (qui est évaluée comme la probabilité de résultat positif chez un patient atteint de la maladie) et leur spécificité (résultats de test négatifs chez une personne en bonne santé). De plus, l'efficacité des tests est évaluée par leur valeur prédictive : la probabilité post-test de la présence de la maladie chez les personnes ayant un résultat de test positif et son absence chez les personnes ayant un résultat de test négatif (Boris et *al.*, 2020).

La plupart des fabricants de kit de dépistage font état de performances analytiques élevées (90 à 100 %) dans les cas où leurs systèmes sont utilisés dans des conditions idéales. Cependant, en situation réelle, l'efficacité de dépistage d'un test dépend d'un certain nombre de facteurs (tels que la forme clinique du COVID-19, la durée de la maladie, la qualité du prélèvement et le type de biomatériaux, les conditions de son stockage, transport, ...etc) (Boris et *al.*, 2020).

Dans le cas idéal, lors de l'utilisation d'un test qui détecte le SRAS-CoV-2 avec une sensibilité et une spécificité de 100%, il serait possible d'établir des analyses statistiques ou épidémiologique sur l'ensemble de la population mondiale. En fonction des résultats obtenus, tous les patients infectés peuvent être triés et répartis dans les catégories suivantes : patients asymptomatiques, patients COVID-19 léger, modéré et sévère. Ceci est primordiale pour le tri et l'orientation des malades vers une mise en quarantaine, ou pour un traitement à domicile, ou bien pour un traitement dans une unité médicale (Boris et *al.*, 2020).

Alternativement, dans un autre cas hypothétique, toute la population serait dépistée pour la présence d'anticorps IgG contre le SRAS-CoV-2. Ce test sérologique serait très informatif quant aux personnes qui ont été précédemment infectés mais qui étaient asymptomatique ou bien immunisés contre le virus. Cette catégorie de la population, dont le taux d'anticorps est régulièrement contrôlé, et pourrait être recrutée comme volontaire pour apporter une assistance sociale ou médicale aux personnes malades (Boris et *al.*, 2020).

a/ RT-PCR en temps réel :

Cette méthode d'amplification du génome virale, a montré des résultats satisfaisant dans le diagnostic de la grippe saisonnière. Elle a été approuvée par l'Organisation mondiale de la

santé (OMS) en tant que Gold standard pour le diagnostic et la détection du SRAS-CoV-2 (Hung et al., 2020 ; Jo et al., 2020 ; Oran et al., 2020). Elle est utilisée dans le dépistage de l'infection à coronavirus SARS-CoV-2 chez des patients asymptomatiques ayant été en contact avec des personnes infectées, pour une détection précoce ou une évaluation des tendances de la progression de l'infection (Kelly-Cirino et al., 2019 ; OMS., 2020 ; Petruzzi et al., 2020 ; Shen et al., 2020).

Contrairement à la PCR traditionnelle appliquée pour amplifier des séquences d'ADN cibles, la RT-PCR est une technique permettant d'amplifier un fragment d'ARN, après l'avoir converti en un ADN complémentaire à l'aide d'une enzyme transcriptase inverse (Calischer et al., 2020 ; Chu et al., 2020 ; Kelly-Cirino et al., 2020 ; Wan et al., 2016). À des fins de diagnostic, il est plus commode d'effectuer ces deux étapes dans le même tube à essai. Selon le nombre d'échantillons et l'organisation du laboratoire de diagnostic, la durée du test varie de 3 à 8 h. Par contre, pour la recherche scientifique, la transcription inverse et la PCR sont réalisées dans des tubes séparés (Adams et al., 2021 ; Brukner et al., 2020).

En plus de la détermination qualitative de l'ARN virale dans les infections, une technologie combinée pour quantifier le gène exprimé est également souvent utilisée. Cette méthode appelée RT-PCR quantitative en temps réel (qRT-PCR ou RT-qPCR), est la version la plus informative et la plus précise de la PCR utilisée pour la détection et la quantification du niveau d'ARN (Alcoba-Florez et al., 2020 ; Hung et al., 2020 ; Wan et al., 2020).

En effet, la réaction d'amplification en chaîne en temps réel peut quantifier la charge virale qui est en corrélation avec l'infectiosité, le phénotype de la maladie et sa gravité ainsi que sa morbidité. Grâce au calcul du $\log_{10}$ de la charge virale chez des patients hospitalisés, il a été possible d'évaluer de manière prospective et quantitative des échantillons positifs pour le SRAS-CoV-2 par RT-PCR en temps réel. En moyenne, la charge virale a été estimée à 5,2 copies/ml (patients survivants) et à 6,4 copies/ml chez les patients décédés. Les auteurs ont conclu que la quantification de la charge virale aiderait les cliniciens dans la stratification des risques et les choix de traitement (Pujadas et al., 2020).

La sensibilité de la RT-PCR est directement en relation avec la qualité du prélèvement. Celui-ci doit contenir la concentration maximale de micro-organismes cibles (SARS-CoV-2) et doit être exempt d'impuretés indésirables qui inhibent la PCR. Malheureusement, le déroulement de la RT-PCR n'inclut pas une étape de contrôle qualité des échantillons appelée Sample Adequacy Control (SAC) qui garantit la quantité, la qualité et la conformité optimales des échantillons (Brukner et al., 2020). Ce type de contrôle utilisé pour les tests moléculaires, est essentiel pour résoudre une variété de problèmes liés aux échantillons analytiques. Cela devrait être un outil de contrôle qualité des échantillons de routine, particulièrement pertinent pendant la pandémie de la COVID-19.

Les échantillons doivent être obtenus à l'aide d'écouvillons floqués et livrés à un laboratoire dès que possible après avoir été collectés. Pour les patients atteints de pneumonie, les expectorations et le lavage broncho-alvéolaire (LBA) sont des substances biologiques à examiner. Pour éviter la dégradation de l'ARN, après avoir été prélevés, les écouvillons sont immergés dans un milieu de transport (tampon de lyse ou sérum physiologique stérile). Les

échantillons doivent être conservés entre 2 et 8 °C jusqu'à 72 h (Calisher et al., 2020 ; Hung et al., 2020 ; Jo et al., 2019). Si un stockage plus long est nécessaire, les échantillons sont congelés à -70 °C et en dessous (Alcoba-Florez et al., 2020 ; Brukner et al., 2020 ; Hung et al., 2020). Par ailleurs, le risque d'avoir des résultats faux négatifs, ainsi que de faux positifs, est un problème important associé à la fiabilité de cette méthode quant à la propagation de l'infection. L'explication principale peut être la distribution inégale du virus dans le système respiratoire, ainsi que (inévitables en présence d'un énorme flux d'échantillons biologiques) le non-respect des règles d'échantillonnage standard (Brukner et al., 2020 ; Hung et al., 2020 ; Jo et al., 2019).

A cet effet, les résultats de la RT-PCR doivent être interprétés avec prudence, en tenant compte des données tomodensitométriques et des symptômes cliniques de la maladie, qui facilitent le diagnostic précoce et assurent un traitement rapide des patients. L'efficacité de la méthode est grandement améliorée en utilisant plusieurs types d'échantillons prélevés dans les voies respiratoires supérieures et inférieures, ainsi qu'en suivant les procédures standard et les pratiques de laboratoire (Brukner et al., 2020 ; Shen et al., 2020).

b/ Tests antigéniques :

La détection rapide d'antigènes viraux représente un test alternatif utilisé dans le diagnostic de la Covid 19. Ces tests sont conçus pour détecter rapidement les particules des protéines virales dans les écouvillonnages nasaux en utilisant une simple procédure de diagnostic *in vitro* qualitatif ou semi-quantitatif, qui peut être réalisée soit en laboratoire, soit sur un point de service local pour donner des résultats en 1 h. La protéine virale recherchée est la nucléocapside du virus N, en raison de son abondance relative et de sa structure conservée (MboumbaBouassa et al., 2021).

La première autorisation d'utilisation d'urgence a été délivrée par la Food and Drug Administration (FDA) des États-Unis à Quidel Corporation pour le Sofia 2 SARS Antigen FIA le 11 mai 2020. Ce test est autorisé pour une utilisation dans les laboratoires certifiés CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments). L'avantage important d'un test antigénique est sa rapidité, son coût modéré et sa spécificité élevée. Cependant, ils ont un taux élevé de faux négatifs en raison d'une sensibilité plus faible que la RT-PCR. De ce fait, un résultat négatif d'un test antigénique rapide nécessite une confirmation par un test PCR avant de formaliser les décisions d'isolement et de traitement (Marlin et al., 2020).

Les performances analytiques des tests antigéniques rapides dépendent de différents facteurs, en l'occurrence la charge virale, la qualité de l'échantillon et la façon dont il est utilisé (Schohy et al., 2020).

b/ Tests sérologiques :

Les tests sérologiques, utilisant le dosage immuno-enzymatique (ELISA), sont relativement simples, sûrs, sensibles et spécifiques pour détecter les anticorps dans le sérum ou le plasma produits en réponse à une infection au SRAS -CoV-2 (Burbelo et al., 2020 ; Isabel et al., 2020 ; Li et al., 2020 ; Nicol et al., 2020).

Les tests sérologiques de détection des anticorps dirigés contre le SRAS-CoV-2 peuvent être utilisés pour identifier rétrospectivement les patients qui ont eu les formes asymptomatiques et bénignes de l'infection. De plus, ils permettent de suivre l'évolution de l'infection chez les patients hospitalisés, ainsi que de retracer les contacts et d'assurer une surveillance épidémiologique au niveau régional pour déterminer l'ampleur réelle de la pandémie et le taux de mortalité (À KK et *al.*, 2020 ; Isabel et *al.*, 2020 ; Li et *al.*, 2020).

Selon les fabricants, la plupart des tests sérologiques ELISA ont une spécificité de plus de 99% et une sensibilité de 96% ou plus (Harvala et *al.*, 2020 ; Patel et *al.*, 2020). Cependant, la plupart des auteurs, afin d'éviter des résultats faussement négatifs, soulignent la nécessité d'étudier les anticorps contre plusieurs antigènes et également d'analyser les échantillons prélevés dans les 20 jours suivant l'infection ou après l'enregistrement des premiers symptômes (Gorbalenya et *al.*, 2020 ; Isabel et *al.*, 2020 ; Li et *al.*, 2020).

La principale exigence pour la fiabilité des tests sérologiques est l'absence de réactivité croisée avec les anticorps produits contre d'autres coronavirus courants qui provoquent des maladies respiratoires moins graves (HCoV-NL68, HCoV-OC43 et HCoV-HKU1). Cependant, une réactivité croisée potentielle ne peut pas être complètement exclue lors de la réalisation de tests ELISA. Des résultats faussement positifs peuvent survenir en cas d'infection causée par un autre type de coronavirus, si la nucléocapside N est utilisée comme antigène dans les systèmes de test (Burbelo et *al.*, 2020 ; Isabel et *al.*, 2020 ; Nicol et *al.*, 2020 ; Zheng et *al.*, 2020).

Chez la plupart des patients, 14 jours ou plus après l'apparition des symptômes, les taux de séropositivité est de 94 % pour les IgG anti-NP, de 88 % pour les IgM anti-NP, 100 % pour les IgG anti-NP, 79.8 % pour les IgG RBD et 94 % pour les IgM anti-RBD. Les niveaux d'IgG anti-SARS-CoV-2-NP ou SARS-CoV-2-RBD seraient en corrélation avec le titre de neutralisation du virus (À KK et *al.*, 2020).

Des tests dits de neutralisation du SRAS-CoV-2 sont essentiels pour évaluer l'efficacité de la réponse immunitaire. Cependant, ce test est exigeant sur le plan logistique, prend du temps et nécessite des installations de confinement de niveau 3 pour travailler en toute sécurité avec des virus vivants. Les employés du Vistar Institute et d'Inovio Pharmaceuticals ont récemment proposé deux tests sûrs pour détecter les anticorps neutralisant les virus. Le premier test est basé sur la résonance plasmonique de surface (SPR) et peut quantifier à la fois la liaison des anticorps à la protéine de pointe du SRAS-CoV-2 et le blocage du récepteur ACE2 en une seule expérience. Le deuxième test est basé sur ELISA et peut mesurer la compétition et le blocage du récepteur ACE2 à la protéine de pointe SARS-CoV-2 avec des anticorps anti-spike (Walker et *al.*, 2020)

De plus, la détection de la corrélation entre les anticorps neutralisants, l'évolution clinique, le pronostic et le schéma temporel de la production d'immunoglobulines serait pertinente pour identifier des agents thérapeutiques spécifiques pour le traitement de la COVID-19 (Harvala et *al.*, 2020).

Des études sur la dynamique de l'émergence d'anticorps antiviraux chez des patients atteints d'autres infections à coronavirus pendant les épidémies de SRAS et de MERS ont montré que des anticorps spécifiques sont produits chez 80 à 100 % des patients en moyenne 14 à 20 jours après le diagnostic. Ceci correspond à 2-3 semaines après le début des symptômes cliniques de la maladie (Burbelo et *al.*, 2020 ; Chen et *al.*, 2020 ; Fernandes et *al.*, 2020 ; Isabel et *al.*, 2020 ; Ghebreyesus et *al.*, 2020 ; Nicol et *al.*, 2020 ; Zheng et *al.*, 2020). Aussi, une forte corrélation positive a été trouvée entre la gravité clinique et le titre total d'anticorps dans les deux semaines suivant l'apparition des symptômes. Selon les données préliminaires, la pandémie actuelle est caractérisée par un schéma temporel typique de production de classes d'immunoglobulines (Huang et *al.*, 2020 ; Guo et *al.*, 2020 ; Wu et *al.*, 2020 ; Zhao et *al.*, 2020).

La production d'Ac d'isotype IgM débiterait à partir du cinquième jour suivant l'apparition des symptômes, et deviendrait détectable chez certains patients à partir du 7ème jour et chez la totalité des patients au cours de la deuxième semaine après apparition des symptômes. La production des IgG survient légèrement en décalé par rapport à celle des IgM mais peut également être fréquemment quasi-concomitante à cette dernière (OMS, 2020).

La dynamique de la réponse immunitaire contre le SARS-CoV-2 et, en particulier, la séroconversion (la production d'anticorps et leur détection dans le sérum sanguin du patient) (**Tableau IV**) en cas de COVID-19, ainsi que la corrélation du niveau d'anticorps spécifiques avec la charge virale et leur rôle dans l'élimination du virus, sont encore à l'étude (A KK et *al.*, 2020 ; Li et *al.*, 2020 ; Wu et *al.*, 2020). Ceci dit, il a été démontré de manière convaincante que la séroconversion est un indicateur de l'infection avec le SARS-CoV-2 aussi fiable que la détection d'ARN viral (Calisher et *al.*, 2020 ; Harvala et *al.*, 2020 ; Isabel et *al.*, 2020 ; Walker et *al.*, 2020 ; Zheng et *al.*, 2020).

Tableau IV. Temps moyen et taux de séroconversion dans le cas de COVID-19 déduits des résultats de l'examen de 173 patients avec un diagnostic confirmé par (Zhao et *al.*, 2020).

Classes d'anticorps	Niveau de séroconversion	Temps moyen de séroconversion (jours)	Séroconversion dans les 15 jours suivant l'apparition des symptômes
Anticorps totaux	93,1%	11	100,0%
IgM	82,7%	12	94,3%
IgG	64,7%	15	79,8%

2/. Comparaison entre la technique de détection moléculaire du SARS-CoV-2 par RT-PCR en temps réel et les tests antigéniques :

Le test de dépistage moléculaire par RT-PCR en temps réel est une analyse de biologie moléculaire qui permet de rechercher le matériel génétique virale chez des personnes atteintes par le SARS-CoV-2 (**Tableau V**). Cette technique fine est très sensible, elle permet de détecter de faibles quantités de virus présent dans un prélèvement nasopharyngé et de dépister les infections de façon précoce ou présentant de faibles charges virales. Les résultats sont généralement connus dans les 24 à 48 heures. Elle représente la méthode référence du dépistage de la COVID-19 (Chu et *al.*, 2019).

Ce type de test requiert toutefois des équipements de pointe et une grande expertise technique. Les problèmes d'accessibilité à cette technologie peuvent donc, dans certains cas, être un frein à la mise en œuvre de campagnes de dépistage préventif à grande échelle.

Malgré le fait que, la RT-PCR en temps réel permet de quantifier la charge virale dans un échantillon et de mesurer son évolution au cours du temps. Elle doit être utilisée en complément d'autres investigations (cliniques, biologiques, et radiologiques). Bien que sa spécificité soit élevée, sa sensibilité dépend largement du type d'échantillon, du moment du prélèvement, de la technique d'échantillonnage et de la qualité du test (Jones et *al.*, 2020).

Ainsi, le résultat de ce test moléculaire doit donc être interprété à la lumière de l'ensemble des données. Trop précoce ou trop tardif, il peut ne pas être informatif parce que le patient est dans la phase pré-symptomatique dans le premier cas, ou déjà en voie de guérison dans le second cas, avec une charge virale indétectable. La charge virale semble être plus élevée la veille et les premiers jours de l'apparition des symptômes (Loeffelholz et *al.*, 2020).

Il faut également rappeler qu'un test parfait, spécifique et sensible à 100%, n'existe tout simplement pas, et que le prélèvement lui-même peut être source de résultat négatif, en raison par exemple d'un prélèvement non conforme, effectué à l'entrée des fosses nasales et non pas profond (au contact de la muqueuse du nasopharynx) tel que recommandé (Corman et *al.*, 2020). Le rendement de cette analyse dépend donc de facteurs multiples incluant le stade de l'infection, l'expérience du praticien qui pratique l'écouvillonnage nasopharyngé mais aussi la qualité de la méthode PCR utilisée (Mertens P et *al.*, 2020)

Concernant les tests antigéniques, ils présentent un avantage majeur qui est la rapidité du déroulement du test (**Tableau V**), à moindre coût et avec une haute spécificité. Cependant, ils présentent un taux élevé de faux négatifs en raison de leur faible sensibilité (Wu et *al.*, 2020). Par conséquent, un résultat négatif d'un test antigénique rapide nécessite une confirmation par un test PCR avant de formaliser les décisions d'isolement et de traitement (Tian S et *al.*, 2020). En effet, avec une sensibilité de <60% et une spécificité de 99.5%. Il n'est positif que

chez les patients présentant une charge virale élevée (correspondant à un Ct de < 25). Ceci constitue un handicap majeur pour une utilisation visant à détecter tous les cas COVID-suspects (Sochy et *al.*, 2020).

Dans certains cas, ce test de screening rapide constitue une alternative à la RT-qPCR et permet de prendre rapidement des décisions cliniques et de quarantaine (personne symptomatique) (Zhu et *al.*, 2019). La réussite de ces test dépend de la qualité et les mauvaises performances de certains kits de tests de plus, l'absence de maîtrise des phases pré-analytiques (réalisation du prélèvement), analytiques (maîtrise des conditions de réalisation du test selon les strictes recommandations du fournisseur : température, temps de lecture, etc.) et post-analytiques (résultats interprétés sur un compte rendu, document normalement opposable) pourraient être des facteurs qui influence sur les résultats. (Mertens et *al.*, 2020).

Tableau V. Comparaison entre tests RT-PCR et tests antigénique

Tests RT-PCR	Tests antigéniques
Détection de l'ARN viral	Détection des protéines virales
Prélèvement nasopharyngé	Prélèvement nasopharyngé / voies respiratoires basses
Les kits de détection des acides nucléiques par RT-PCR en temps réel du (SARS-CoV-2) sont basés sur la méthode PCR qui utilise une sonde fluorescente et une amorce spécifique pour détecter 2 ou 3 régions spécifiques au sein du génome du nouveau coronavirus (SARS-CoV-2).	Les tests les plus utilisé c'est les tests ELISA qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps ; et tests chromatographiques qui est une réaction chimique, enzymatique ou immunologique fait apparaître une coloration particulière permettant d'interpréter immédiatement le résultat.
Hautement sensible et spécifique	Spécifique mais pas assez sensible
Diagnostic fiable	Diagnostic d'orientation
Résultats en trois heures	Résultats en 15 à 30 minutes
Détecte la contamination au début de l'infection après l'apparition des symptômes, là où la charge virale est la plus élevées. Peut être utilisé chez les personnes asymptomatiques.	Test précoce qui est réalisé sur des personnes symptomatique.

3/. Apport des tests sérologiques dans le suivi de l'infection

Mise à part quelques exceptions ; les tests sérologiques validés sont relativement rares à l'heure actuelle (Pulia et *al.*,2020). Les tests à flux latéral pour les anticorps IgM et IgG du SRAS-CoV-2 peuvent être utiles pour évaluer la charge de l'infection par le COVID-19. Cependant, d'importantes limitations existent ,notamment la faible spécificité des réponses IgM et le retard de la séro conversion retardée des réponses IgG spécifiques. (Zhanget *al.*,2020)

Par conséquent, ces tests ne peuvent pas être utilisés pour des diagnostics aigus. Mais peuvent représenter une indication indirecte de l'infection par le COVID-19 qui est mieux utilisée pour confirmer les cas tardifs de COVID-19 rétrospectivement, ou pour évaluer l'immunité des prestataires de soins de santé pendant la pandémie. En outre, ils peuvent être utiles pour prédire quels patients bénéficieraient de tests répétés, d'une auto-isolation ou de thérapies ciblées contre le COVID-19 (Casadevall et *al.*,2020 ; Pulia et *al.*,2020).

Enfin, il convient de noter que le plasma de convalescence, ou les fractions contenant des immunoglobulines, obtenues à partir de personnes guéris de la COVID-19, ont été utilisées avec succès pour traiter les patients atteints de la maladie active du COVID-19 (Chen et *al.*, 2020 ; Zhang W et *al.*,2020).

Conclusion

Des efforts ont été déployés dans le monde entier pour contenir la crise sanitaire liée à la propagation du virus SARS-CoV-2 qui a mis à l'épreuve de manière agressive les systèmes de santé les plus performants. Les cliniciens sont intensément mis au défi avec des options thérapeutiques limitées et des cibles spécifiques pour cette maladie. Les scientifiques sont à pleine vitesse pour développer des tests de diagnostic, des vaccins et de nouvelles thérapies. Néanmoins, certains succès dans le contrôle de la pandémie de COVID-19 ont été obtenus, entre autres, grâce à l'utilisation d'outils de diagnostic moléculaires et immunologiques de pointes et le développement en un temps record de plusieurs technologies vaccinales pour protéger les populations.

Aussi, l'expérience acquise dans la maîtrise des épidémies de SRAS et de MERS a servi d'assise pour l'élaboration d'une stratégie de détection du virus SARS-CoV-2, permettant ainsi au personnel de la santé de prendre les décisions organisationnelles nécessaires à temps.

Bien que le diagnostic moléculaire par RT-PCR en temps réel soit de par sa sensibilité et sa spécificité, la méthode de dépistage la plus fiable. Le manque de kits et de personnel qualifié limitent sa généralisation dans tous les laboratoires. Dans ce cas, les tests antigéniques peuvent constituer une méthode alternative, rapide et peu onéreuse, qui permet de prendre des décisions cliniques et de mise en quarantaine à temps, afin de briser la chaîne de transmission. Ceci dit, cette dernière technique manque de sensibilité ce qui nous oblige à contrôler les patients présentant un test antigénique négatif par une RT-PCR en temps réel.

Quant aux tests sérologiques, qui permettent la détection d'une immunité humorale chez des personnes précédemment atteintes, ils sont utilisés comme un indicateur de la prévalence du SARS-CoV-2 et de l'immunité collective.

Les tests RT-PCR en temps réel et les tests antigéniques sont deux technologies qui ont accompagnés le monde dès l'apparition de COVID-19. Néanmoins, L'évolution exponentielle de SARS-CoV-2 et l'émergence de nouvelles mutations qui causent des symptômes plus graves confirment largement la nécessité de développer des technologies plus rapides et ciblées. Cependant, le développement des méthodes de diagnostic doit être suivi par des démarches de développement des traitements plus efficaces.

Références Bibliographiques

1. Organisation mondiale de la santé . (2020). *Tests de laboratoire pour la maladie à coronavirus (COVID-19) dans les cas humains suspectés*. Réf : OMS/COVID-19/laboratoire/2020.5. Genève .
2. Zhang W., Du RH., Li B., Zheng XS., Yang XL. (2019). Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect.* 9:386–389. doi: 10.1080/22221751.2020.1729071.
3. Zou X., Chen K., Zou J., Han P., Hao J., Han Z. (2020). L'analyse des données d'ARN-seq unicellulaire sur l'expression du récepteur ACE2 révèle le risque potentiel de différents organes humains vulnérables à l'infection par 2019-nCoV. *Front Med.* 14 : 185–192. doi: 10.1007 / s11684-020-0754-0.
4. Zeghib safia., Balázs Somogyi., Brigitta Zana., Gábor Kemenesi., Róbert Herczeg., Fawzi Derrar., Ferenc Jakab.(2020). The Algerian chapter of SARS-CoV-2 pandemic: An evolutionary, genetic, 2 and epidemiological prospect of the first wave.doi.org/10.1101/2020.11.19.20235135.
5. Public Health England. Investigation of novel SARSCOV-2 variant. (2020). Variant of concern 202012/01. London: PHE; 2020.
6. Son W., Gui M., Wang X., Xiang Y.(2020). Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. doi: 10.1371/journal.ppat.1007236.
7. Zhou P., Yang XL., Wang XG., Hu B., Zhang L., Zhang W., Si HR., Zhu Y., Li B., Huang CL. (2020). Une épidémie de pneumonie associée à un nouveau coronavirus d'origine probable de chauve-souris. *La nature.*; 579 : 270-273. doi: 10.1038 / s41586-020-2012-7.
8. Loeffelholz MJ., Tang YW. (2020). Diagnostic en laboratoire des infections émergentes à coronavirus humain - l'état de l'art. *Les microbes émergents infectent.* 9 : 747–756. doi: 10.1080 / 22221751.2020.1745095.
9. Cui J., Li F., Shi ZL. (2019). Origine et évolution des coronavirus pathogènes. *Nat. Rev. Microbiol.* 17 : 181–192. doi: 10.1038 / s41579-018-0118-9.
10. Zhang W., Du RH., Li B. (2020). Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect* ;9(1):386–389. doi: 10.1080/22221751.2020.1729071.
11. Lau SKP., Woo PCY., Li KSM., Huang Y., Tsoi HW., Wong BHL., Wong SSY., Leung SY., Chan KH., Yuen KY. (2005).Virus de type coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère chez les fers à cheval chinois.Proc. Natl. Acad. Sci. ETATS-UNIS. 102 : 14040-14045. doi: 10.1073 / pnas.0506735102.
12. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein JH., Wang H., Cramer G., Hu Z., Zhang H. (2005). Les chauves-souris sont des réservoirs naturels de coronavirus de type SRAS. *Science* (80); 310 : 676–679. doi: 10.1126 / science.1118391.
13. Hu B., Zeng LP., Yang XL., Ge XY., Zhang W., Li B., Xie JZ., Shen XR., Zhang YZ., Wang N. (2017). La découverte d'un riche pool de gènes de coronavirus liés au SRAS

- de chauve-souris fournit de nouvelles informations sur l'origine du coronavirus du SRAS. *PLoS Pathog.* 13 : 1–27. doi: 10.1371 / journal.ppat.1006698.
14. Lacroix A. (2017). Genetic diversity of coronaviruses in bats in Lao PDR and Cambodia. *Infect. Genet. Evol.* 48:10–18.
 15. Ge XY., Li JL., Yang XL., Chmura AA., Zhu G., Epstein JH., Mazet JK., Hu B., Zhang W., Peng C. (2013). Isolement et caractérisation d'un coronavirus de chauve-souris semblable au SRAS qui utilise le récepteur ACE2. *La nature.* 2013; 503 : 535–538. doi: 10.1038 / nature12711.
 16. Wang Q., Zhang L., Kuwahara K., Li L., Liu Z., Li T., Zhu H., Liu J., Xu Y., Xie J. (2016). Les épitopes immunodominants du coronavirus du SRAS chez l'homme ont provoqué des effets à la fois améliorants et neutralisants sur l'infection chez les primates non humains. *ACS Infect. Dis.* 2016; 2 : 361–376. doi: 10.1021 / acsinfecdis.6b00006.
 17. Wang D., Hu B., Hu C., Zhu F., Liu X., Zhang J., Wang B., Xiang H., Cheng Z., Xiong Y. (2020). Caractéristiques cliniques de 138 patients hospitalisés atteints de pneumonie infectée par le nouveau coronavirus 2019 à Wuhan, en Chine. *JAMA.* 2020; 323 : 1061-1069. doi: 10.1001 / jama.2020.1585.
 18. Sola I., Almazán F., Zúñiga S., Enjuanes L. (2015). Synthèse continue et discontinue d'ARN dans les coronavirus. *Annu. Rev. Virol.* 2015; 2 : 265-288. doi: 10.1146 / annurev-virology-100114-055218.
 19. Woo PCY., Lau SKP., Lam CSF., Lau CCY., Tsang AKL., Lau JHN., Bai R., Teng JLL., Tsang CCC., Wang M. (2012). La découverte de sept nouveaux coronavirus mammifères et aviaires dans le genre Deltacoronavirus prend en charge les coronavirus des chauves-souris en tant que source génique d'alphacoronavirus et de bêtacoronavirus et les coronavirus aviaires en tant que source génique de Gammacoronavirus et Deltacoronavi. *J. Virol.* 2012; 86 : 3995–4008. doi: 10.1128 / JVI.06540-11.
 20. Li W., Moore MJ, Vaslieva N., Sui J., Wong SK., Berne MA., Somasundaran M., Sullivan JL., Luzuriaga K., Greeneugh TC. (2003). L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 est un récepteur fonctionnel du coronavirus du SRAS. *La nature.* 2003; 426 : 450–454. doi: 10.1038 / nature02145.
 21. Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., Ren R., Leung KSM., Lau EHY., Wong JY. (2020). Dynamique de transmission précoce à Wuhan, en Chine, d'une nouvelle pneumonie infectée par un coronavirus. *N Engl J Med.* 2020; 382 : 1199-1207. doi: 10.1056 / NEJMoa2001316.
 22. Sainz B., Rausch JM., Gallaher WR., Garry RF., Wimley WC. (2005). Identification et caractérisation du peptide de fusion putatif de la protéine de pointe de coronavirus associée au syndrome respiratoire aigu sévère. *J. Virol.* 2005; 79 : 7195–7206. doi: 10.1128 / JVI.79.11.7195-7206.2005.
 23. Raj VS., Mou H., Smits SL., Dekkers DHW., Müller MA., Dijkman R., Muth D., Demmers JAA., Zaki A., Fouchier RAM. (2013). La Dipeptidyl peptidase 4 est un récepteur fonctionnel du nouveau coronavirus humain-EMC. *La nature.* 2013; 495 : 251–254. doi: 10.1038 / nature12005.

24. Williams RK., Jiang GS., Holmes KV. (1991). Receptor for mouse hepatitis virus est un membre de la famille des antigènes carcinoembryonnaires des glycoprotéines. *Proc. Natl. Acad. Sci. ETATS-UNIS.* 1991; 88 : 5533–5536. doi: 10.1073 / pnas.88.13.5533.
25. Nédellec P., Dveksler GS., Daniels E., Turbide C., Chow B., Basile AA., Holmes KV., Beauchemin N. (1994). Bgp2, un nouveau membre de la famille de gènes liés à l'antigène carcinoembryonnaire, code un récepteur alternatif pour la souris virus de l'hépatite. *J. Virol.* 1994; 68 : 4525–4537. doi: 10.1128 / JVI.68.7.4525-4537.1994.
26. Fehr AR., Perlman S. (2015). Coronavirus: Un aperçu de leur réplication et de leur pathogénèse. *Méthodes Mol. Biol.* 2015; 1282 : 1–23.
27. Song Z., Xu Y., Bao L., Zhang L., Yu P., Qu Y., Zhu H., Zhao W., Han Y., Qin C. (2019).Projecteur. *Les virus.* 2019; 11 : 59. doi: 10.3390 / v11010059.
28. Tai W., He L., Zhang X., Pu J., Voronin D., Jiang S., Zhou Y., Du L. (2020). Caractérisation du domaine de liaison au récepteur (RBD) du nouveau coronavirus 2019: Implication pour développement de la protéine RBD en tant qu'inhibiteur de l'attachement viral et vaccin. *Cellule. Mol. Immunol.* 2020; 17 : 613–620. doi: 10.1038 / s41423-020-0400-4.
29. Gupta, P., Goyal, K., Kanta, P., Ghosh, A.,& Singh, M. P. (2019). Novel 2019-coronavirus on new year's Eve. *Indian J. Med. Microbiol.* 37, 459–477 (2019). DOI: 10.4103/ijmm.IJMM_20_54.
30. Liu S., Xiao G., Chen Y., He Y., Niu J., Escalante CR., Xiong H., Farmer J., Debnath AK., Tien P. (2004).Interaction entre les régions de répétition de l'heptade 1 et 2 dans la protéine de pointe du coronavirus associé au SRAS: implications pour le mécanisme fusogène du virus et l'identification des inhibiteurs de fusion. *Lancette.* 2004; 363 : 938–947. doi: 10.1016 / S0140-6736 (04) 15788-7.
31. Bailey ES., Fieldhouse JK., Choi JY., Gray GC. (2018). Un mini examen du potentiel de menace zoonotique des virus grippaux, des coronavirus, des adénovirus et des entérovirus . *Devant. Guérison publique .* 6 : 104.
32. Wevers BA., van der Hoek L.(2009).Coronavirus humains récemment découverts. *Clin Lab Med.* 2009; 29 : 715–724. doi: 10.1016 / j.cll.2009.07.007.
33. Xu X., Chen P., Wang J., Feng J., Zhou H., Li X., Zhong W., Hao P. (2020).Évolution du nouveau coronavirus à partir de l'épidémie actuelle de Wuhan et modélisation de sa protéine de pointe pour le risque de transmission humaine. *Sci China Life Sci.* 2020; 63 : 457–460. doi: 10.1007 / s11427-020-1637-5.
34. Ren LL., Wang YM., Wu ZQ., Xiang ZC., Guo L., Xu T, Jiang YZ., Xiong Y., Li YJ., Li XW. (2020). Identification d'un nouveau coronavirus provoquant une pneumonie sévère chez l'homme: une étude descriptive. *Chin Med J (Engl)* 2020; 133 : 1015-1024. doi: 10.1097 / CM9.0000000000000722.
35. Kuba K., Imai Y., Rao S., Gao H., Guo F., Guan B., Huan Y., Yang P., Zhang Y., Deng W.(2005). Un rôle crucial de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) dans les lésions pulmonaires induites par le coronavirus du SRAS . *Nat Med .* 11 (8): 875–879.
36. Zhao B., Ni C., Gao R., Wang Y., Yang L., Wei J., Lv T., Liang J., Zhang Q., Xu W. (2020). Récapitulation de l'infection par le SRAS-CoV-2 et des lésions des

- cholangiocytes avec des organoïdes canaux hépatiques humains. *Cellule protéique*. 2020; 11 : 771–775. doi: 10.1007 / s13238-020-00718-6.
37. Sodhi CP., Nguyen J., Yamaguchi Y., Werts AD., Lu P., Ladd MR., Fulton WB., Kovler ML., Wang S., Prindle T. (2019). Une variation dynamique de l'ECA2 pulmonaire est nécessaire pour moduler l'inflammation neutrophile en réponse à une infection pulmonaire à *Pseudomonas aeruginosa* chez la souris .*J. Immunol* . 203 (11): 3000–3012.
 38. Glowacka I., Bertram S., Herzog P., Pfefferle S., Steffen I., Muench MO., Simmons G., Hofmann H., Kuri T., Weber F.(2010). Régulation à la baisse différentielle de l'ACE2 par les protéines de pointe du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère et du coronavirus humain NL63 .*J. Virol* . 84 (2): 1198-1205.
 39. Liu S., Zhang M., Yang L., Li Y., Wang L., Huang Z., Wang L., Chen Z., Zhou M. (2017). Prévalence et modèles de tabagisme chez les hommes et les femmes adultes chinois: résultats de l'enquête nationale de 2010 sur le tabagisme . *J Epidemiol Community Health* . 71 (2): 154-161.
 40. Cai G. (2020). Disparité de l'usage du tabac dans l'expression génique de l'ACE2, le récepteur de 2019-nCov. Pré-impressions. DOI: 10.20944 / preprints202002.0051.v1 .
 41. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y. (2020).Caractéristiques épidémiologiques et cliniques de 99 cas de pneumonie à nouveau coronavirus 2019 à Wuhan, Chine: une étude descriptive. *Lancette*. 2020; 395 : 507–513. doi: 10.1016 / S0140-6736 (20) 30211-7.
 42. Lin W., Hu L., Zhang Y., Ooi JD., Meng T., Jin P., Ding X., Peng L., Song L., Xiao Z. (2020).L'analyse monocellulaire de l'expression de l'ACE2 dans les reins et la vessie humains révèle une voie potentielle d'infection au 2019-nCoV. Doi2020: 10.1101 / 2020.02.08.939892. bioRxiv: 2020.02.08.939892.
 43. Fan C., Li K., Ding Y., Lu WL., Wang J. (2020).ACE2 dans les reins et les testicules peut endommager les reins et les testicules après une infection au 2019-nCoV. 2020 doi: 10.1101 / 2020.02.12.20022418. medRxiv: 2020.02.12.20022418.
 44. Tian S., Xiong Y., Liu H., Niu L., Guo J., Liao M., Xiao SY.(2020).Étude pathologique de la nouvelle maladie à coronavirus de 2019 (COVID-19) par biopsies post-mortem. *Mod Pathol*. 2020; 33 : 1007-1014. doi: 10.1038 / s41379-020-0536-x.
 45. Peiris JS., Chu CM., Cheng VC., Chan KS., Hung IF., Poon LL., Law KI., Tang BS., Hon TY., Chan CS.(2003).Progression clinique et charge virale dans une épidémie communautaire de pneumonie associée au SRAS associée au coronavirus: une étude prospective. *Lancette*. 2003; 361 : 1767–1772. doi: 10.1016 / S0140-6736 (03) 13412-5.
 46. Drosten C., Günther S., Preiser W., van der Werf S., Brodt HR., Becker S., Rabenau H., Panning M., Kolesnikova L., Fouchier RA.(2003). Identification d'un nouveau coronavirus chez les patients atteints d'un syndrome respiratoire aigu sévère. *N Engl J Med*. 2003; 348 : 1967–1976. doi: 10.1056 / NEJMoa030747.
 47. MacLean OA., Orton RJ., Singer JB., Robertson DL. (2020). No evidence for distinct types in the evolution of SARS-CoV-2. *Virus Evol* 2020;6(1):veaa034.

48. McMahan K., Yu J., Mercado NB., Loos C., Tostanoski LH., Chandrashekar A. (2021). Correlates of protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Nature* 2021;590(7847):630-4.
49. Jin P., Li J., Pan H., Wu Y., Zhu F. (2021). Immunological surrogate endpoints of COVID-2019 vaccines: the evidence we have versus the evidence we need. *Signal Transduct Target Ther* 2021;6(1):48.
50. Gobeil SM., Janowska K., McDowell S., Mansouri K., Parks R., Manne K. (2021). D614G mutation alters SARSCoV-2 spike conformation and enhances protease cleavage at the S1/S2 junction. *Cell Rep* 2021;34(2):108630.
51. CNR Virus des infections respiratoires, Santé publique France. (2021). Analyse de risque liée aux variants émergents de SARS-CoV-2 réalisée conjointement par le CNR des virus des infections respiratoires et Santé publique France. Mise à jour du 25/03/2021. Paris: Institut Pasteur; 2021.
52. Naveca F., da Costa C., Nascimento V., Souza V., Corado A., Nascimento F. (2021). SARS-CoV-2 reinfection by the new Variant of Concern (VOC) P.1 in Amazonas, Brazil [En ligne] 2021.
53. Faria NR., Morales Claro I., Candido D., Moyses Franco LA., Andrade PS., Coletti TM. (2021). Genomic characterisation of an emergent SARS-CoV-2 lineage in Manaus: preliminary findings [En ligne] 2021.
54. Wang P., Nair MS., Liu L., Iketani S., Luo Y., Guo Y. (2021). Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7. *Nature* 2021.
55. Wibmer CK., Ayres F., Hermanus T., Madzivhandila M., Kgagudi P., Oosthuysen B. (2021). SARS-CoV-2 501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma. *Nat Med* 2021.
56. Tian Y., Rong L., Nian W., He Y. (2019). Gastrointestinal features in COVID-19 and the possibility of faecal transmission. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020;51(9):843–851. doi: 10.1111/apt.15731.
57. Tang X., Wu C., Li X. (2020). *NatSciRev*; 2020. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. nwa036.
58. Yan, C., Cui, J., Huang, L., Du, B., Chen, L., Xue, G. (2020) Rapid and visual detection of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) by a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *Clin. Microbiol. Infect.* 26, 773–779 (2020). DOI: 10.1016/j.cmi.2020.04.001.
59. Ai T., Yang Z., Hou H., Zhan C., Chen C., Lv W., Tao Q., Sun Z., Xia L. (2020). Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology.* 2020;296:E32–E40. doi: 10.1148/radiol.2020200642.
60. Tablizo FA., Kim KM., Lapid CM., Castro MC., Yangzon MS., Maralit BA. (2020). Genome sequencing and analysis of an emergent SARS-CoV-2 variant characterized by multiple spike protein mutations detected from the Cebu Visayas region of the Philippines [preprint]. medRxiv 2021.
61. Dae-Gyun A., Hye-Jin S., Mi-Hwa K. (2020). Current status of epidemiology, diagnosis, therapeutics, and Vaccines for Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) *J. Microbiol. Biotechnol.* 2020;30(3):313–324.

62. Mertens P., De Voe N., Martiny D., Jassoy C., Mirazimi A., Cuypers L., Van den Wijngaert S., Monteil V., Melin P., Stoffels K., Yin N., Mileto D., Delaunoy S., Magein H., Lagrou K., Bouzet J., Serrano G., Wautier M., Leclipteux T., Van Ranst M., Vandenberg O. (2020). Groupe de travail de diagnostic LHUB-ULB SARS-CoV-2. 8 mai 2020. Développement et utilité potentielle du test diagnostique COVID-19 Ag Respi-Strip dans un contexte pandémique.
63. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., Yang B., Song J., Zhao X., Huang B., Shi W., Lu R., Niu P., Zhan F., Ma X., Wang D., Xu W., Wu G., Gao GF., Tan W. (2019). équipe chinoise d'enquête et de recherche sur le nouveau coronavirus. 2020. Un nouveau coronavirus de patients atteints de pneumonie en Chine, 2019 .N Engl J Med 382 :727-733. doi:10.1056/NEJMoa2001017.
64. Mak GC., Cheng PK., Lau SS., Wong KK., Lau C., Lam ET. (2020). Évaluation du test rapide d'antigène pour la détection du virus SARS-CoV-2. J Clin Virol. 2020 ; 129 :104500. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104500.
65. Yang X., Yu Y., Xu J. (2020). Évolution clinique et résultats des patients gravement malades atteints de pneumonie SARS-CoV-2 à Wuhan, en Chine : une étude observationnelle rétrospective monocentrique. Lancet Respir Med. doi 2020 : 10.1016/S2213-2600(20)30079-5.
66. Guo L., Ren L., Yang S., Xiao M., Chang D., Yang F., Dela Cruz CS, Wang Y., Wu C., Xiao Y. (2019). Profilage de la réponse humorale précoce pour diagnostiquer la nouvelle maladie à coronavirus (COVID-19) *Clin. Infect. Dis.* 2019 ; 71 :778-785. doi: 10.1093/cid/ciaa310.
67. Pan J., Wang MX., Ang IY., Tan SH., Lewis RF., Chen JI. (2020). Diagnostic rapide potentiel, vaccin et thérapeutique pour le nouveau coronavirus 2019 (2019-nCoV): une revue systématique. 623 J Clin Med. 2020; 9.
68. Yang Y., Yang M., Shen C., Wang F., Yuan J., Li J., Zhang M., Wang Z., Xing L., Wei J. (2019). Évaluer la précision de différents échantillons respiratoires dans le diagnostic en laboratoire et surveiller l'excrétion virale des infections à 2019-nCoV. *medRxiv*. doi 2019 : 10.1101/2020.02.11.20021493.
69. Bai H.X., Hsieh B., Xiong Z., Halsey K., Choi J.W., Tran T.M.L. (2019). Performance of radiologists in differentiating COVID-19 from viral pneumonia on chest CT. *Radiology*. 2019:200823. DOI : 10.1148/radiol.2020200823.
70. Wu K., Zou J., Chang HY. (2020). ARN-GPS prédit la localisation de l'ARN du SRAS-CoV-2 pour héberger les mitochondries et le nucléole. *bioRxiv*. 2020 doi: 10.1101/2020.04.28.065201.
71. Jackson B, Rambaut A, Pybus OG, Robertson DL, Connor T, Loman NJ. Recombinant SARS-CoV-2 genomes involving lineage B.1.1.7 in the UK [En ligne] 2021.
72. Van Riel D, de Wit E. Next-generation vaccine platforms for COVID-19. *Nat Mater* 2020;19:810-2.
73. Trovato M, Sartorius R, D'Apice L, Manco R, De Berardinis P. Viral emerging diseases: challenges in developing vaccination strategies. *Front Immunol* 2020;11:2130
74. Pawelec G, Weng NP.. Un vaccin efficace contre le sras-cov-2 peut-il être développé pour la population plus âgée ? *Immun. Vieillessement* . 2020 ; 17 .

75. Dagan N., Barda N., Kepten E., Miron O., Perchik S., Katz M. A., et coll. « BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in a Nationwide Mass Vaccination Setting », *The New England Journal of Medicine*, 24 février 2021.
76. Clark A, Jit M, Warren-Gash C, Guthrie B, Wang HHX, Mercer SW, Sanderson C, McKee M, Troeger C, Ong KL, et al . Estimations mondiales, régionales et nationales de la population à risque accru de COVID-19 sévère en raison de problèmes de santé sous-jacents en 2020 : une étude de modélisation .*Lancet Glob Heal* .2020.
77. Pritchard E., Matthews P. C., Stoesser N., Eyre D. W., Gethings G., Vihta K., et coll. « Impact of vaccination on SARS-CoV-2 cases in the community: a population-based study using the UK's COVID-19 Infection Survey », *medRxiv*, no 21255913 [prépublication], 23 avril 2021 [cité le 27 mai 2021]
78. Hall V. J., Foulkes S., Saei A., Andrews N., Oguti B., Charlett A., et coll. « COVID-19 vaccine coverage in health-care workers in England and effectiveness of BNT162b2 mRNA vaccine against infection (SIREN): a prospective, multicentre, cohort study », *The Lancet*, vol. 397, no 10286, p. 1725-1735, 8 mai 2021 [cité le 19 mai 2021].
79. Shrotri M., Krutikov M., Palmer T., Giddings R., Azmi B., Subbarao S., et coll. « Vaccine effectiveness of the first dose of ChAdOx1 nCoV-19 and BNT162b2 against SARS-CoV-2 infection in residents of Long-Term Care Facilities (VIVALDI study) », *medRxiv*, no 21254391 [prépublication], 26 mars 2021 [cité le 27 mai 2021].
80. Dunbar E., Godbout E., Pryor R., Rozycki H. J. et G. Bearman. « Impact of COVID-19 vaccination program on healthcare worker infections in an academic hospital », *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 10 février 2021 [diffusion en ligne avant l'impression].
81. Abu-Raddad L. J., Chemaitelly H. et A. A. Butt du National Study Group for COVID-19 Vaccination. « Effectiveness of the BNT162b2 Covid-19 Vaccine against the B.1.1.7 and B.1.351 Variants », *The New England Journal of Medicine*, 5 mai 2021.
82. Chung H., He S., Nasreen S., Sundaram M., Buchan S. A., Wilson S. E., et coll. « Effectiveness of BNT162b2 and mRNA-1273 COVID-19 vaccines against symptomatic SARS-CoV-2 infection.
83. Lopex Bernal J., Andrews N., Gower C., Gallagher E., Simmons R., Thelwall S., et coll. « Effectiveness of COVID-19 vaccines against the B.1.617.2 variant » [prépublication], 19 mai 2021 [cité le 1er juin 2021].
84. Bailly B., Guilpain L., Bouiller K., Chirouze C., N'Debi M., Soulier A., et coll. « BNT162b2 mRNA vaccination did not prevent an outbreak of SARS COV-2 variant 501Y.V2 in an elderly nursing home but reduced transmission and disease severity », *Clinical Infectious Diseases*, 16 mai 2021.
85. Huang Z., Tian D., Liu Y., Lin Z., Lyon CJ, Lai W., Fusco D., Drouin A., Yin X., Hu TY. (2020). Diagnostic COVID-19 ultra-sensible et à haut débit alimenté par CRISPR. *Biosens. Bioelectron.* 2020 ; 164 :112316. doi: 10.1016/j.bios.2020.112316.
86. Patrick A, Mahony J, Chong S, Broukhanski G, Gharabaghi F, Johnson G, Louie L, Luinstra K, Willey B, Akhavan P, Chui L, Jamieson F, Louie M, Mazzulli T, Tellier R, Smieja M, Cai W, Chernesky M, Richardson SE. (2020). for the Ontario Laboratory Working Group for the Rapid Diagnosis of Emerging Infections Multicenter comparison of nucleic acid extraction methods for detection of severe

- acute respiratory syndrome coronavirus RNA in stool specimens. *J Clin Microbiol.* 2020;44(8):2681–2688. doi: 10.1128/JCM.02460-05.
87. Marty F.M., Chen K., Verrill K.A. (2020). How to obtain a nasopharyngeal swab specimen. *N Engl J Med.* 2020;382:e76. DOI : 10.1056/NEJMvcm2010260.
 88. Patel R., Babady E., Theel E.S., Storch G.A., Pinsky B.A., George K.S., Smith T.C., Bertuzzi S. (2020). Report from the American Society for Microbiology COVID-19 International Summit, 23 March 2020: Value of Diagnostic Testing for SARS-CoV-2/COVID-19. *mBio.* 2020;11:e00722-20. doi: 10.1128/mBio.00722-20.
 89. Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19. [(accessed on 29 December 2020)].
 90. Daley, P., Castriciano, S., Chernesky, M. & Smieja, M. (2006). Comparison of flocced and rayon swabs for collection of respiratory epithelial cells from uninfected volunteers and symptomatic patients. *J. Clin. Microbiol.* 44, 2265–2267 (2006). DOI: 10.1128/JCM.02055-05.
 91. Singh K.K., Chaubey G., Chen J.Y., Suravajhala P. (2020). Decoding SARS-CoV-2 hijacking of host mitochondria in COVID-19 pathogenesis. *Am. J. Physiol. Physiol.* 2020;319:C258–C267. doi: 10.1152/ajpcell.00224.2020.
 92. Hung D.L.-L., Li X., Chiu K.H.-Y., Yip C.C.-Y., To K.K.-W., Chan J.F.-W., Sridhar S., Chung T.W.-H., Lung K.-C., Liu R.W.-T. (2020). Early-Morning vs Spot Posterior Oropharyngeal Saliva for Diagnosis of SARS-CoV-2 Infection: Implication of Timing of Specimen Collection for Community-Wide Screening. *Open Forum Infect. Dis.* 2020;7:ofaa210. doi: 10.1093/ofid/ofaa210.
 93. Jo S., Kim S., Shin D.H., Kim M.S. (2020). Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *J. Med. Chem. Enzym. Inhib.* 2020;35:145–151. doi: 10.1080/14756366.2019.1690480.
 94. Calisher C., Carroll D., Colwell R., Corley R.B., Daszak P., Drosten C., Enjuanes L., Farrar J., Field H., Golding J. (2020). Statement in support of the scientists, public health professionals, and medical professionals of China combatting COVID-19. *Lancet.* 2020;395:e42–e43. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30418-9.
 95. Chu D.K., Pan Y., Cheng S.M., Hui K.P., Krishnan P., Liu Y., Ng D.Y., Wan C.K., Yang P., Wang Q. (2020). Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clin. Chem.* 2020;66:549–555. doi: 10.1093/clinchem/hvaa029.
 96. Wan J., Xing S., Ding L., Wang Y., Gu C., Wu Y., Rong B., Li C., Wang S., Chen K. (2020). Human-IgG-Neutralizing Monoclonal Antibodies Block the SARS-CoV-2 Infection. *Cell Rep.* 2020;32:107918. doi: 10.1016/j.celrep.2020.107918.
 97. Kelly-Cirino C.D., Nkengasong J., Kettler H., Tongio I., Gay-Andrieu F., Escadafal C., Piot P., Peeling R.W., Gadde R., Boehme C. (2019). Importance of diagnostics in epidemic and pandemic preparedness. *BMJ Glob. Health.* 2019;4(Suppl. 2) doi: 10.1136/bmjgh-2018-001179.
 98. Brukner I., Eintracht S., Papadakis A.I., Faucher D., Lamontagne B., Spatz A., Oughton M. (2020). Maximizing confidence in a negative result: Quantitative sample adequacy control. *J. Infect. Public Health.* 2020;13:991–993. doi: 10.1016/j.jiph.2020.01.307.

99. Khailany R.A., Safdar M., Ozaslan M. (2020). Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2. *Gene Rep.* 2020;19:100682. doi: 10.1016/j.genrep.2020.100682.
100. Alcoba-Florez J., Gil-Campesino H., de Artola D.G., González-Montelongo R., Valenzuela-Fernández A., Ciuffreda L., Flores C. (2020). Sensitivity of different RT-qPCR solutions for SARS-CoV-2 detection. *Int. J. Infect. Dis.* 2020;99:190–192. doi: 10.1016/j.ijid.2020.07.058.
101. Lambert-Niclot S., Cuffel A., Le Pape S. (2020). Evaluation of a Rapid Diagnostic Assay for Detection of Sars-CoV-2 Antigen in Nasopharyngeal Swabs. *J Clin Microbiol.* 2020;58(8):e00977–e00980.
102. Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y. (2019) . Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 395, 497–506 (2019). DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
103. Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC) COVID 19. [(consulté le 11 août 2020)].
104. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y., Liang WH, Ou CQ, He JX, Liu L., Shan H., Lei CL, Hui DSC, et al. Caractéristiques cliniques de la maladie à coronavirus 2019 en Chine. *N. Engl. J. Méd.* 2020 ; 382 : 1708-1720. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.
105. DeKosky BJ Un piège moléculaire contre COVID-19. *La science.* 2020 ; 369 : 1167–1168. doi: 10.1126/science.abe0010.
106. Liu DX, Liang JQ, *module de référence* Fung TS en sciences de la vie. Elsevier ; Oxford, Royaume-Uni : 2020. Coronavirus humain-229E, -OC43, -NL63 et -HKU1.
107. Ghebreyesus TA, Swaminathan S. Les scientifiques sprintent pour dépasser le nouveau coronavirus. *Lancette.* 2020 ; 395 :762-764. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30420-7.
108. Oran DP, Topol EJ Prévalence de l'infection asymptomatique par le SRAS-CoV-2. *Anne. Interne. Méd.* 2020 ; 173 :362-367. doi : 10.7326/M20-3012.
109. Petruzzi G., De Virgilio A., Pichi B., Mazzola F., Zocchi J., Mercante G., Spriano G., Pellini R. COVID -19 : écouvillonnage nasal et oropharyngé. *Cou tête.* 2020 ; 42 : 1303-1304. doi: 10.1002/hed.26212.
110. Shen Z., Xiao Y., Kang L., Ma W., Shi L., Zhang L., Zhou Z., Yang J., Zhong J., Yang D. Diversité génomique du syndrome respiratoire aigu sévère-Coronavirus 2 chez les patients atteints de maladie à coronavirus 2019. *Clin. Infecter. Dis.* 2020 ; 71 :713-720. doi: 10.1093/cid/cia203.
111. Adams NM, Leelawong M., Benton A., Quinn C., Haselton FR, Schmitz JE COVID-19 diagnostics pour les environnements à ressources limitées : évaluation de la qRT-PCR « non extraite ». *J. Méd. Virol.* 2021 ; 93 :559-563. doi: 10.1002/jmv.26328
112. Pujadas E., Chaudhry F., McBride R., Richter F., Zhao S., Wajnberg A., Nadkarni G., Glicksberg BS, Houldsworth J., Cordon-Cardo C. La charge virale SARS-CoV-2 prédit Mortalité liée au COVID-19. *Lancette Respir. Méd.* 2020 ; 8 :70. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30354-4.
113. Isabel M., Damien G., Benoit K., Hafid D., Soleimani R., Vincenzo C., Olivier V., Beatrice G., Fleur W., Hector RV Évaluation de deux immunoessais automatisés et trois immunoessais rapides à flux latéral pour la détection des anticorps anti-SARS-CoV-2. *J. Clin. Virol.* 2020 ; 128 :104413.

114. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C., Rawlings S., Smith D., Das S., Strich JR, Chertow DS, Davey RT, Cohen JI Sensitivity in Detection of Antibodies to Nucleocapsid and Spike Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 chez les patients atteints de maladie à coronavirus 2019. *J. Infect. Dis.* 2020 ; 222 :206-213. doi: 10.1093/infdis/jiaa273.
115. Nicol T., Lefevre C., Serri O., Pivert A., Joubaud F., Dubée V., Kouatchet A., Ducancelle A., Lunel-Fabiani F., Le Guillou-Guillemette H. Evaluation du SRAS-Tests sérologiques CoV-2 pour le diagnostic de COVID-19 à travers l'évaluation de trois immunoessais : Deux immunoessais automatisés et un immunoessai rapide à flux latéral (NG Biotech) *J. Clin. Virol.* 2020 ; 129 :104511. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104511.
116. À KK-W., Tsang OT-Y., Leung W.-S., Tam AR, Wu T.-C., Lung DC, Yip CC-Y., Cai J.-P., Chan JM- C., Chik TS-H., et al. Profils temporels de la charge virale dans les échantillons de salive oropharyngée postérieure et réponses en anticorps sériques pendant l'infection par le SRAS-CoV-2 : une étude de cohorte observationnelle. *Lancette infectée. Dis.* 2020 ; 20 :565-574. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1.
117. H., Robb ML, Watkins N., Ijaz S., Dicks S., Patel M., Supasa P., Wanwisa D., Liu C., Mongkolsapaya J., et al. Thérapie plasmatique de convalescence pour le traitement des patients atteints de COVID -19 : évaluation des méthodes disponibles pour la détection des anticorps et leur corrélation avec les niveaux d'anticorps neutralisants. *Transfusé. Méd.* doi 2020 : 10.1111/tme.12746.
118. Ghebreyesus TA, Swaminathan S. Les scientifiques sprintent pour dépasser le nouveau coronavirus. *Lancette.* 2020 ; 395 :762-764. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30420-7.
119. Walker SN, Chokkalingam N., Reuschel EL, Purwar M., Xu Z., Gary EN, Kim KY, Helble M., Schultheis K., Walters J., et al. Tests SARS-CoV-2 pour détecter les réponses d'anticorps fonctionnels qui bloquent la reconnaissance de l'ACE2 chez les animaux vaccinés et les patients infectés. *J. Clin. Microbiol.* 2020 ; 58 :e01533-20. doi: 10.1128/JCM.01533-20.
120. Fernandes JD, Hinrichs AS, Clawson H., Gonzalez JN, Lee BT, Nassar LR, Raney BJ, Rosenbloom KR, Nerli S., Rao AA, et al. Le navigateur de génome UCSC SARS-CoV-2. *Nat. Genet.* 2020 ; 52 : 1–8. doi: 10.1038/s41588-020-0700-8.
121. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A et al (2020) Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by realtime RT-PCR.
122. Mertens P, De Voe N, Martiny D, Jassoy C, Mirazimi A, Cuypers L, Van den Wijngaert S, Monteil V, Melin P, Stoffels K, Yin N, Mileto D, Delaunoy S, Magein H, Lagrou K, Bouzet J, Serrano G, Wautier M, Leclipteux T, Van Ranst M, Vandenberg O. (2020). Groupe de travail de diagnostic LHUB-ULB SARS-CoV-2. 8 mai 2020. Développement et utilité potentielle du test diagnostique COVID-19 Ag Respi-Strip dans un contexte pandémique.
123. Scohy A., Anantharajah A., Bodéus M., Kabamba-Mukadi B., Alexia V., Hector R (2020) Faible performance du test de détection rapide des antigènes en tant que test de première ligne pour le diagnostic du COVID-19.

124. Krammer F, Srivastava K, Simon V. (2021). Robust spike antibody responses and increased reactogenicity in seropositive individuals after a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine [preprint]. medRxiv 2021.
125. Bradley T, Grundberg E, Selvarangan R. (2021). Antibody responses boosted in seropositive healthcare workers after single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine [preprint]. medRxiv 2021.
126. Levi R, Azzolini E, Pozzi C, Ubaldi L, Lagioia M, Mantovani A, *et al.*(2021). A cautionary note on recall 1 vaccination in ex-COVID-19 subjects [preprint]. medRxiv 2021.
127. Saadat S, Rikhtegaran-Tehrani Z, Logue J, Newman M, Frieman MB, Harris AD, *et al.* (2021). Single dose vaccination in healthcare workers previously infected with SARS-CoV-2 [preprint]. medRxiv 2021.
128. Stamatatos L, Czartoski J, Wan YH, Homad LJ, Rubin V, Glantz H, *et al.* (2021). Antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection and boosted by vaccination neutralize an emerging variant and SARS-CoV-1 [preprint]. medRxiv 2021.
129. Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, *et al.* (2021). Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 vaccine. *N Engl J Med* 2021;383(27):2603-15.
130. Stokel-Walker C. (2021). What we know about covid-19 reinfection so far. *BMJ* 2021;372:n99.
131. Ogawa J., Zhu W., Tonnu N., Singer O., Hunter T., Ryan AL, Pao GM. (2020). La mutation D614G dans la protéine Spike SARS-CoV2 augmente l'infectivité d'une manière dépendante du récepteur ACE2. *bioRxiv*. doi 2020 : 10.1101/2020.07.21.214932
132. Lemarchand M. Covid-19 : MSD abandonne deux candidats-vaccins, dont celui développé avec l'Institut Pasteur. *Industrie Pharma*. 25/01/2021. [internet]; 2021 [cited 2021 February 08]. Available from:
133. Van Riel D, de Wit E. Next-generation vaccine platforms for COVID-19. *Nat Mater* 2020;19:810-2.
134. Trovato M, Sartorius R, D'Apice L, Manco R, De Berardinis P. Viral emerging diseases: challenges in developing vaccination strategies. *Front Immunol* 2020;11:2130.
135. Le Bihan O, Chèvre R, Pitard B, and Lambert O. Probing the mechanism of action of cationic lipid/DNA lipoplexes at a nanometric scale. *Nucleic Acids Res* 2011;39:1595-609 Lindsay KE, Bhosle SM, Zurla C, Beyersdorf J, Rogers KA, Vanover D, *et al.* Visualization of early events in mRNA vaccine delivery in non-human primates via PET/CT and near-infrared imaging. *Nat Biomed Eng* 2019 ;3:371-80.
136. van Doremalen N, Lambe T, Spencer A, Belij-Rammerstorfer S, Purushotham JN, Port JR, *et al.* ChAdOx1 nCoV-19 vaccine prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques. *Nature* 2020;586:578-82.
137. Corbett KS, Flynn B, Foulds KE, Francica JR, Boyoglu-Barnum S, Werner AP, *et al.* Evaluation of the mRNA-1273 vaccine against SARS-CoV-2 in nonhuman primates. *N Engl J Med* 2020;383:1544-55.

ملخص :

إن جائحة COVID-19 هو مرض معدي حديث يسبب أزمة صحية عالمية. وهو ناتج عن فيروس كورونا الجديد SARS-CoV-2 من جنس betacoronavirus ، والذي ظهر في الصين في عام 2019 قبل أن ينتشر في جميع أنحاء العالم. تتكون مورثات الفيروس التاجي من RNA أحادي السلسلة يبلغ 30 كيلو بايت ، أي 29903 نيوكليوتيدو 11 مورثة. يمكن أن تتنوع الأعراض التي تسببها هذه العدوى من نزلات البرد إلى متلازمة الالتهاب التنفسي الحاد ، وتمثل الأزمة الصحية العالمية التي نعيشها تحديًا تشخيصيًا كبيرًا. وبالفعل ، فإن الكشف السريع والمحدد عن هذا الفيروس يسمح بمكافحة الجائحة بشكل جيد. تم تطوير العديد من اختبارات الفحص واستخدامها خلال المرحلة المبكرة من الإصابة. في هذه الحالة ، RT-PCR الذي يستهدف المورثة E أو RdRp لتحديد الحمض النووي الريبي SARS-CoV-2 وكذلك اختبار الكشف عن مستضد معين لهذا الفيروس بواسطة ELISA أو طرق أخرى عن طريق عينة أنفية بلعومية. على الرغم من أن خصوصية RT-PCR في تشخيص COVID عالية ، إلا أن حساسيتها تعتمد على الحمل الفيروسي وجودة العينة ووقت الجمع. ومع ذلك ، فإن هذا التحليل الجزيئي يكمل التحقيقات الأخرى. بالنسبة لاختبارات المستضد ، فهي أقل حساسية من RT-PCR. ولكن نظرًا لسرعتها وتكلفتها الرخيصة نسبيًا ، فقد تكون ذات فائدة للفحص الشامل أو في حالات الطوارئ. بالنسبة للاختبارات المصلية تجعل من الممكن تحديد حركة الأجسام المضادة. ستكون الدراسات التي تقيم التوافق بين جميع هذه الاختبارات ضرورية في هذه المرحلة من الجائحة.

الكلمات المفتاحية: Coronavirus، SARS-CoV-2، الجائحة، RT-PCR، اختبارات المستضد، الاختبارات المصلية.

Abstract :

The COVID-19 pandemic is an emerging infectious disease causing a global health crisis. It is caused by the novel coronavirus SARS-CoV-2 of the genus betacoronavirus, which appeared in China in 2019 before spreading around the world. The genome of the coronavirus consists of a single-stranded RNA of 30 Kb, i.e. 29903 nucleotides and 11 genes. The clinical manifestations induced by this infection can vary from the common cold to severe acute respiratory syndrome. The global health crisis we are experiencing presents a major diagnostic challenge. Indeed, the rapid and specific detection of this virus allows a good control of the pandemic. Several screening tests have been developed and are used during the early phase of the infection. These include real-time RT-PCR, which targets the E or RdRp gene for the identification of SARS-CoV-2 RNA, as well as the detection of the specific antigen of this virus by ELISA or other immuno-chromatographic methods following a nasopharyngeal swab. Although the specificity of RT-PCR in the diagnosis of COVID is high, its sensitivity depends on the viral load, the quality of the sample and the time of collection. However, this molecular analysis is complementary to other investigations. For antigenic tests, they are less sensitive than RT-PCR. However, given their rapidity and relatively low cost, they could be interesting for mass screening or in emergency situations. Serological tests are indicators of the prevalence of SARS-CoV-2 and herd immunity. They allow the definition of antibody kinetics. Studies evaluating the concordance between all these tests would be necessary at this stage of the pandemic.

Key words: Coronavirus, SARS-CoV-2, Pandemic, RT-PCR, Antigenic tests, Serological tests.