

Année 2022

Mémoire N° : MS612022

## *Mémoire de fin d'études*

Pour L'obtention du Diplôme National de Spécialité

Option : **ANALYSES BIOLOGIQUES MEDICALES**

*Intitulé*

***EVALUATION DE TROIS TESTS RAPIDES  
ANTIGÉNIQUES DANS LE DIAGNOSTIC  
DU SARS-COV-2***

*Présenté par :*

**Docteur Rim EL BACHA**

*Sous la direction du :*

**Professeur Rachid ABI**

**Professeur Mohamed Rida TAGAJDID**

# *Dédicaces*

*A mes parents,*

*Pour leur soutien infaillible tout au long de ce parcours*

*A ma sœur Rania,*

*Pour sa douceur, son honnêteté et sa générosité sans faille.*

*A mes frères,*

*A ma sœur de cœur Sofia,*

*Pour son amitié fidèle*

*A mon binôme de choc Laila,*

*Pour ces quatre années pleines de joie, de larmes et de rires.*

# Remerciements

*Ce mémoire, témoin des quatre années de spécialité, n'aurait pu aboutir sans l'aide et le soutien de plusieurs personnes que je tiens à remercier.*

*A Monsieur le Professeur ABI Rachid Professeur Agrégé en Microbiologie-Biologiste au Laboratoire de Virologie à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V- Rabat , je vous remercie d'avoir permis à ce travail d'aboutir, et ce du choix du sujet à sa finalité . Merci pour votre sympathie à toute épreuve.*

*A Monsieur le Professeur TAGAJDID Mohammed Rida, Professeur Agrégé en Virologie-Biologiste au Laboratoire de Virologie à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V- Rabat , je vous prie d'accepter toute ma gratitude que ce soit par vos précieux conseils professionnels mais aussi vos conseils de vie, de nous avoir à tous, toujours ouvert la porte de votre bureau et de vos connaissances, et d'avoir été, un exemple à suivre tant par votre savoir que la transmission de ce dernier.*

*A tous nos Maîtres, Professeurs de l'UPR de Biologie Médicale, merci pour tous les enseignements transmis au cours de ces quatre années.*

*Aux Professeurs Membres du Jury, je tiens à vous remercier pour votre présence et le temps consacré à la lecture de ce mémoire.*

*Enfin, mes remerciements à tous le personnel hospitalier, qui ont participé à ma formation humaine et professionnelle.*

*Je vous prie à tous de recevoir mes plus humble, sincères remerciements pour ces merveilleuses années.*

# ***LISTE DES ABREVIATIONS***

<b>ACE2</b>	: Angiotensin-Converting Enzyme 2
<b>ADN</b>	: Acide desoxyribonucléique
<b>ADNc</b>	: Acide desoxyribonucléique complémentaire
<b>ADNdb</b>	: Acide desoxyribonucléique double brin
<b>ADNsb</b>	: Acide desoxyribonucléique simple brin
<b>ARN</b>	: Acide Ribonucléique
<b>AVC</b>	: Accident Vasculaire Cérébral
<b>BA</b>	: Test Standard Q covid-19
<b>BPCO</b>	: Bronchopathie Chronique Obstructive
<b>CDC</b>	: Centers for Disease Control and Prevention
<b>CLIA</b>	: Chemiluminescent Immunoassays
<b>Cov</b>	: Coronavirus
<b>COVID-19</b>	: Coronavirus Disease 2019
<b>CRP</b>	: C Reactive Protein
<b>Ct</b>	: Cycle Treshold
<b>dNTP</b>	: desoxyribonucléotide phosphate
<b>ELISA</b>	: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
<b>FA</b>	: FrenD <sup>®</sup> Ag Covid-19
<b>FFP1</b>	: Filtering Face piece 1
<b>FFP2</b>	: Filtering Face piece 2
<b>hACE2</b>	: human Angiotensin-Converting Enzyme 2
<b>HE</b>	: Hémagglutinine
<b>HRP</b>	: Horseradish Peroxidase

<b>HTA</b>	: HyperTension Artérielle
<b>LAMP</b>	: Loop-mediated isothermal Amplification
<b>LBA</b>	: Lavage Broncho-Alvéolaire
<b>MERS</b>	: Middle East Respiratory Syndrome
<b>NP</b>	: Protéine de la Nucléocapside
<b>NTD</b>	: N-terminal Domain
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>ORF</b>	: Open Reading Frame
<b>PA</b>	: Panbio <sup>TM</sup> covid-19
<b>PCR</b>	: Polymerase Chain Reaction
<b>RBD</b>	: Receptor Binding Domain
<b>RdRp</b>	: RNA dependant RNA Polymerase
<b>RT</b>	: Reverse Transcription
<b>RT-LAMP</b>	: Reverse Transcription -Loop-mediated isothermal Amplification
<b>RT-PCR</b>	: Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction
<b>SARS</b>	: Severe Acute Respiratory Syndrome
<b>SARS-CoV- 2</b>	: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
<b>TDM</b>	: Tomodensitométrie
<b>TDR</b>	: Test de Diagnostic Rapide
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tumor Necrosis Factor $\alpha$
<b>TROD</b>	: Test Rapide d'Orientation Diagnostique
<b>UTR</b>	: Untranslated Transcribed Region
<b>VEGF</b>	: Vascular endothelial growth factor
<b>VPN</b>	: Valeur Prédictive Négative
<b>VPP</b>	: Valeur Prédictive Positive

# LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> COVID-19, évolution des cas confirmés, Maroc, 2020 .....	6
<b>Figure 2:</b> Évolution quotidienne des cas et des décès de COVID-19 déclarés au Maroc entre le 2 mars 2020 et le 17 janvier 2021 .....	6
<b>Figure 3 :</b> Classification et Taxonomie des Coronavirus humains .....	8
<b>Figure 4 :</b> Phylogénie des Coronavirus .....	9
<b>Figure 5 :</b> Structure du SARS-COV-2 .....	11
<b>Figure 6 :</b> Représentation schématique du génome du SRAS-CoV-2 .....	12
<b>Figure 7 :</b> Cycle de réplication viral du SARS-CoV-2 .....	14
<b>Figure 8:</b> Les mutations de la protéine S du SRAS-CoV-2 .....	19
<b>Figure 9 :</b> Réponse immunitaire aux infections virales. ....	27
<b>Figure 10:</b> Illustration d'un test immunochromatographique .....	34
<b>Figure 11:</b> A- Images de coronavirus sous microscope électronique B- Particules virales émergente de cellules mises en culture sous microscope électronique à balayage .....	35
<b>Figure 12:</b> SARS- CoV-2 au microscope électronique à la surface de cellules cultivées .....	35
<b>Figure 13:</b> Cinétique des marqueurs du diagnostic virologique de l'infection SARS-CoV-2 .....	36
<b>Figure 14:</b> Chronologie des événements et application des mesures .....	39
<b>Figure 15:</b> Les différents tests antigéniques utilisés dans notre étude.....	45
<b>Figure 16:</b> Étapes de réalisation du test FA : FrenD Ag COVID-19 Nanoentek .....	45
<b>Figure 17:</b> Répartition des cas selon le sexe .....	47
<b>Figure 18:</b> Conduite à tenir face aux patients en ambulatoire .....	51

# ***LISTE DES TABLEAUX***

<b>Tableau 1</b> : Variants anciennement préoccupants .....	17
<b>Tableau 2</b> : Variants préoccupants actuels .....	17
<b>Tableau 3</b> : Variants à suivre .....	18
<b>Tableau 4</b> : Variants sous surveillance actuels .....	18
<b>Tableau 5</b> : Principales caractéristiques des variants du SRAS-CoV-2 .....	20
<b>Tableau 6</b> : Les formes cliniques de la COVID-19 et ses complications .....	26
<b>Tableau 7</b> : Table résumée des vaccins contre la COVID-19 .....	41
<b>Tableau 8</b> : Comparaison entre les tests antigéniques rapides et la RT-PCR pour les groupes S1, S2 et S3. ....	48
<b>Tableau 9</b> : Résumé des principales données statistiques.....	49

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>PARTIE I : RAPPELS GÉNÉRAUX</b> .....	3
<b>I. RAPPELS HISTORIQUES</b> .....	4
A. Les coronavirus humains.....	4
B. Pandémies et épidémies impliquant un coronavirus .....	5
C. La Pandémie de 2019 .....	5
<b>II. CARACTERES VIROLOGIQUES</b> .....	7
A. Taxonomie .....	7
B. Caractéristiques structurales .....	10
C. Génome.....	12
D. Cycle de réplication viral .....	13
E. Propriétés physicochimiques .....	15
F. Les variants du SARS-CoV-2 .....	15
<b>III. EPIDEMIOLOGIE</b> .....	20
A. Réservoir du virus .....	20
B. Modes de transmission .....	21
C. Répartition géographique .....	21
<b>IV. PHYSIOPATHOLOGIE ET MANIFESTATIONS CLINIQUES</b> .....	23
a. Physiopathologie .....	23
B. Aspects cliniques de la COVID-19 .....	24



1. Durée d'incubation et contagion .....	24
2. Forme asymptomatique et symptomatique.....	24
3. Forme graves et modes d'évolution .....	25
C. Réponse immunitaire de l'hôte. ....	27
V. ROLE DU LABORATOIRE DANS LE DIAGNOSTIC DE LA COVID-19.....	28
A. Mesures de précaution : Sécurité au laboratoire.....	28
B. Diagnostic biologique d'orientation.....	28
C. Diagnostic de certitude .....	29
1. Diagnostic direct .....	29
a- Types de prélèvements réalisés pour le diagnostic et leur préparation .....	29
b- Diagnostic direct moléculaire .....	29
(i) RT-PCR en temps réel.....	29
(ii) L'amplification isotherme .....	31
(iii) Séquençage nucléotidique à haut débit .....	33
c. Diagnostic direct antigénique .....	33
b. Culture cellulaire .....	35
2. Diagnostic indirect .....	36
II. MOYENS THERAPEUTIQUES ET PROPHYLACTIQUES.....	39
A. Traitement.....	39
B. Prévention .....	40
1. Prévention individuelle.....	40

2. Prévention collective .....	40
<b>PARTIE II : ETUDE DES PERFORMANCES ANALYTIQUES DE TROIS TESTS ANTIGÉNIQUES POUR LE DIAGNOSTIC DU SARS-COV-2.....</b>	<b>42</b>
A- Matériels et méthodes.....	43
1- Type, Lieu et période de l'étude.....	43
2- Recueil des données.....	43
3- RT-PCR et Tests antigéniques .....	44
a. Réalisation et acheminement des prélèvements.....	44
b. La RT-PCR au laboratoire .....	44
c. Les tests antigéniques .....	44
4- Analyse statistique.....	45
B- Résultats.....	47
1- Données épidémiologiques .....	47
2- Données du diagnostic virologique .....	47
i. Taux de positivité de la RT-PCR.....	47
ii. Taux de positivité des tests antigéniques .....	48
3- Analyse statistiques des données.....	49
C- Discussion .....	50
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>54</b>
<b>RESUMES.....</b>	<b>56</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>60</b>



***INTRODUCTION***

En décembre 2019, une nouvelle maladie à coronavirus a émergé en Chine donnant suite à des cas groupés de pneumonies d'étiologies inconnues, et peu de temps après, en janvier 2020, le virus 2019 n-CoV a été déclaré comme étant l'agent responsable (1).

Le Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV) l'a nommé SARS-CoV-2, virus associé à la maladie COVID-19, pour Corona Virus Disease 2019 (2). Au Maroc, le premier cas confirmé de contamination a été détecté en mars 2020 (3).

L'épidémie a été d'évolution rapide, elle a tout d'abord affecté d'autres régions de la Chine puis de l'Asie, l'Amérique du Nord, l'Océanie et l'Europe. Très rapidement, l'épidémie s'est transformée en pandémie. Malgré les mesures prises dans de nombreux pays, la COVID-19 reste une menace mondiale.

Le partage par les autorités chinoises des séquences du génome viral sur la plateforme GISAID a été un point clé de la gestion de la pandémie. En effet, il a permis le développement rapide de tests moléculaires ayant pour but de détecter ce nouveau virus (4). Ainsi, la RT-PCR a donc été considérée comme le test de référence pour le diagnostic positif des cas de COVID-19 et ce, par la détection de l'ARN du virus dans les prélèvements respiratoires. Elle est l'un des piliers de la maîtrise de cette pandémie. L'accès au diagnostic par PCR a beaucoup évolué depuis le début de la pandémie. Cependant, il reste étroitement lié au niveau du développement du pays concerné. De ce fait, d'autres alternatives diagnostiques se sont vu être développées. Parmi elles, l'utilisation des tests de diagnostic rapide antigéniques utiles en particulier pour un dépistage de masse. Ils sont donc, un outil supplémentaire dans la lutte contre la pandémie.

L'objectif de notre travail était de mener une évaluation des performances analytiques de trois tests rapides antigéniques commercialisés pour le diagnostic du SARS-CoV-2 : FRENDO<sup>®</sup> Ag COVID-19 (NanoEntek) (FA), STANDARD Q COVID-19 Ag (SD Biosensor) (BA) et PANBIO<sup>™</sup> COVID-19 Ag RAPID TEST DEVICE (Abbott) (PA).



***PARTIE I :***  
***RAPPELS GÉNÉRAUX***

## I. RAPPELS HISTORIQUES

### A. Les coronavirus humains

En 1967, a été créé le genre « coronavirus » qui regroupait les critères morphologiques des virus animaux connus depuis 1930. Il existe sept coronavirus humains qui auraient tous une origine animale, HCoV-229E et HCoV-OC43 découverts en 1960, SARS-CoV en 2003, HCoV-NL63 en 2004 aux Pays-Bas, HCoV-HKU1 en 2005 à Hong-Kong, MERS-CoV en 2012 au Moyen Orient et le SARS-CoV-2 en 2019 (5).

La souche HCoV-229E a été isolée en 1966 et proviendrait des chauves souris africaines et a comme hôte intermédiaire les camélidés. L'infection par le HCoV-229E est associée à un syndrome grippal chez les adultes, cependant chez les âges extrêmes ou chez les sujets immunodéprimés il peut y avoir une atteinte des voies respiratoires inférieures. Il sévit sous forme épidémique en hiver dans les pays tempérés.

La souche HCoV-OC43 (Organ Culture 43) a été isolée en 1967, les patients infectés ont les mêmes symptômes que lors d'une infection par la souche HCoV-229E.

A ces symptômes se rajoute un mal de gorge fréquent. Sept génotypes A-G ont été identifiés.

Sa transmission est également hivernale.

Le HCoV-NL63 (NetherLand 63) a été isolé en 2004 aux Pays Bas chez un nourrisson de 7 mois, la saisonnalité de l'infection ne peut être limitée à l'hiver et ce, surtout dans les régions tropicales et subtropicales.

Le HCoV-HKU1 (Hong Kong University 1) a été isolé à Hong Kong en 2005. L'infection par ce virus est fréquente chez l'adulte et se manifeste par une rhinorrhée, une toux, une congestion nasale ainsi qu'une fièvre, des maux de gorge, des frissons et une hypertrophie des amygdales (6).

## **B. Pandémies et épidémies impliquant un coronavirus**

Le SARS-CoV a été découvert en 2002 dans la province chinoise de Guangdong au cours de l'hiver 2002-2003 et s'est rapidement propagée à Hong Kong et par la suite au Vietnam, Singapour, Canada et ailleurs. 29 pays ont été atteints sur 6 continents différents.

A la fin de cette pandémie en juillet 2003, 8422 cas avaient été enregistrés avec un taux de mortalité de 10,8%. Le réservoir est animal, il s'agit des petits mammifères tels que les chats civettes et la transmission initiale inter-espèces animal-homme provenait probablement des marchés d'animaux (7).

Le MERS-CoV est responsable de l'épidémie de 2012 en Arabie Saoudite. Il a été isolé chez un patient de 60 ans ayant développé une pneumonie aiguë et une insuffisance rénale. Un MERS-CoV identique humain a été isolé chez les chameaux dromadaires, hôte réservoir du MERS-CoV (8). Le MERS-CoV est l'un des virus les plus dévastateurs connus chez l'homme avec un taux de décès de 34,4% (80).

## **C. La Pandémie de 2019**

Dans la province de Hubei en Chine, une nouvelle forme de pneumonie sévère d'étiologie inconnue a été déclarée en fin 2019. Après enquêtes, le point de départ était le marché de fruits de mer de Wuhan. Début janvier, l'agent causal a été identifié : nCoV-19 dont la séquence virale fut séquencé le 12 Janvier 2020 (9). Liée à la similarité des symptômes causés avec celle du SARS-CoV de 2002, il a été par la suite nommé SARS-CoV-2. Le 11 mars 2020, la nouvelle maladie a été déclarée par l'OMS comme pandémie, et ce à cause de sa forte contagiosité et létalité (10). A l'échelle mondiale, 405 (à mettre à jour après) millions de cas positifs à ce jour (15 février 2022) et 5,8 (à mettre à jour après) millions de décès.

A L'échelle nationale, les figures 1 et 2 montrent la chronologie de l'évolution des cas.

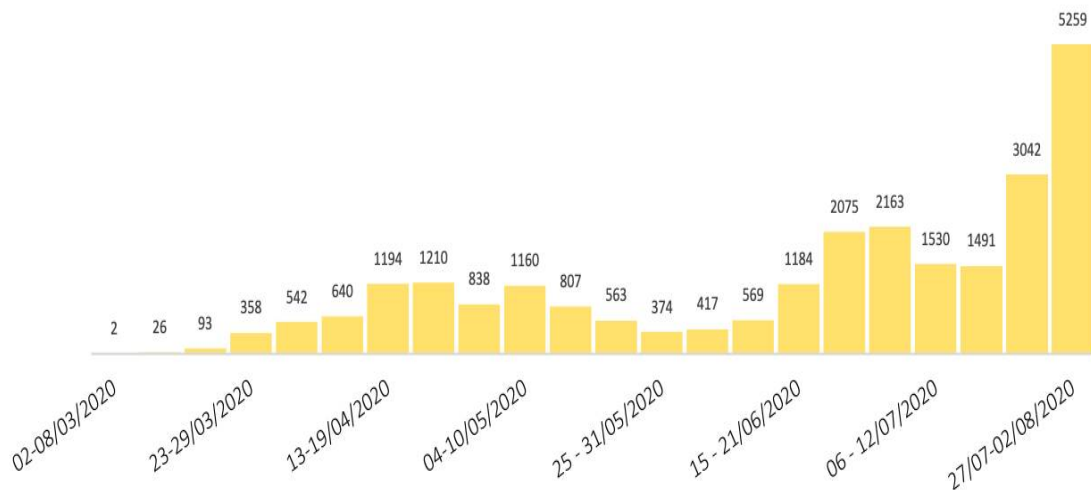


Figure 1: COVID-19, évolution des cas confirmés, Maroc, 2020 (11)

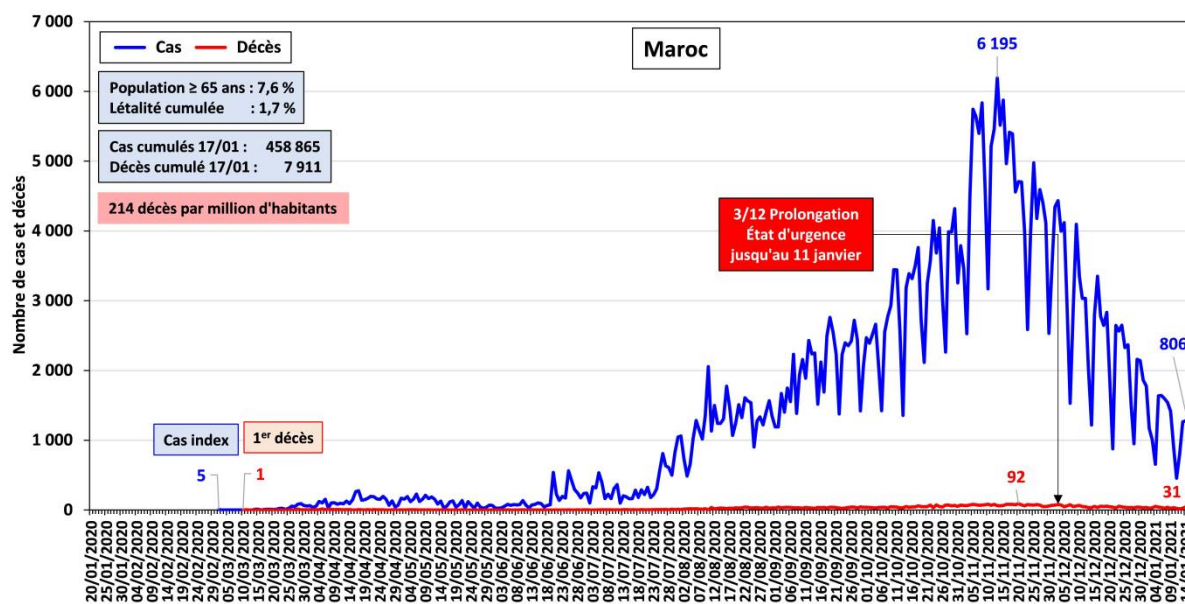


Figure 2: Évolution quotidienne des cas et des décès de COVID-19 déclarés au Maroc entre le 2 mars 2020 et le 17 janvier 2021 (81)



## II. CARACTERES VIROLOGIQUES

### A. Taxonomie

Depuis les années 2000, la taxonomie des coronavirus (CoV) est actualisée par l'ICTV.

A ce jour, les coronavirus appartiennent à l'ordre des *Nidovirales* (12) et à la famille des *Coronaviridae* qui est subdivisée en deux sous familles : les *Coronavirinae* et les *Torovirinae*. Les *Coronavirinae* ont été divisés en 4 genres : *Alpha*, *Beta*, *Gamma* et *Deltacoronavirus*. Après étude phylogénétique, le SRAS-Cov-2 a été classé comme *betacoronaviridae* (13).

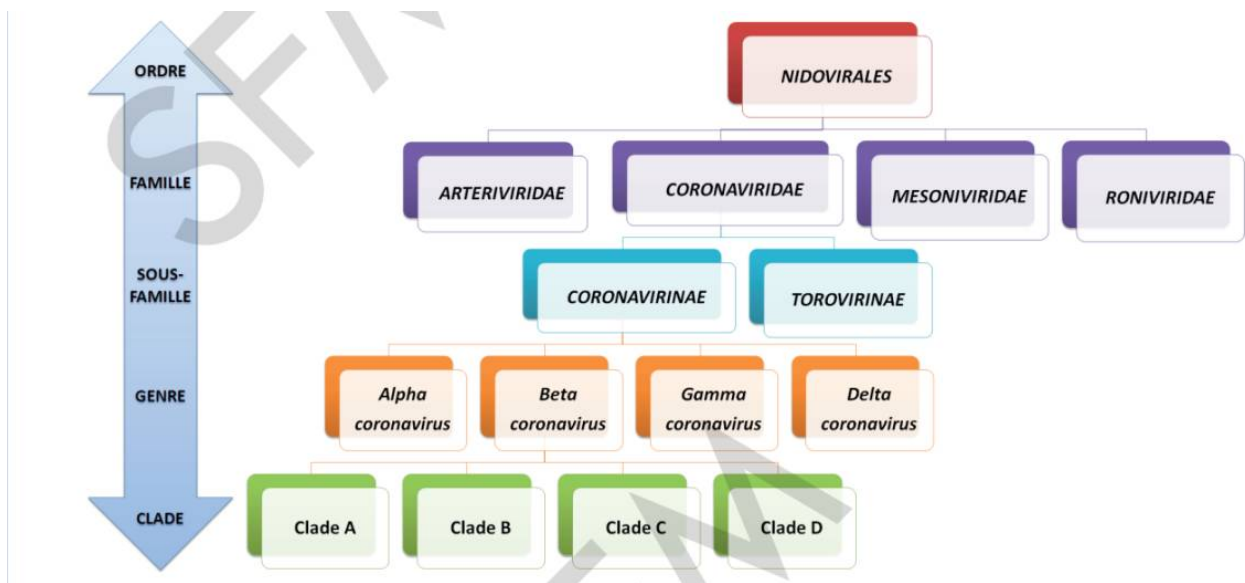
La figure 3 résume la taxonomie des coronavirus humains.

Il existe une similitude génétique de 79,5% entre le SARS-CoV-2 et le SARS-CoV.

L'hôte naturel est la chauve-souris.

Il existe une haute similitude entre certains coronavirus de chauve-souris tels que le *Bat-COV RaTG13* à 96% d'homologie détectés chez *Rhinolophus affinis* dans la province de Yunnan (Chine) avec le SRAS-CoV-2. ( figure 4) .

Les coronavirus des chauve-souris ne peuvent pas directement infecter l'homme il faut qu'elles subissent des mutations ou des recombinaisons. Le pangolin pourrait être l'hôte intermédiaire du SRAS-CoV-2 lié à une similitude de séquence avec le coronavirus de ce dernier. En Chine, plusieurs études sont à la recherche des différents hôtes intermédiaires. L'hôte intermédiaire a un rôle important car il permet d'être une aide non négligeable dans la prévention et donc dans le contrôle de la COVID-19.



**Figure 3** : Classification et Taxonomie des Coronavirus humains (14)

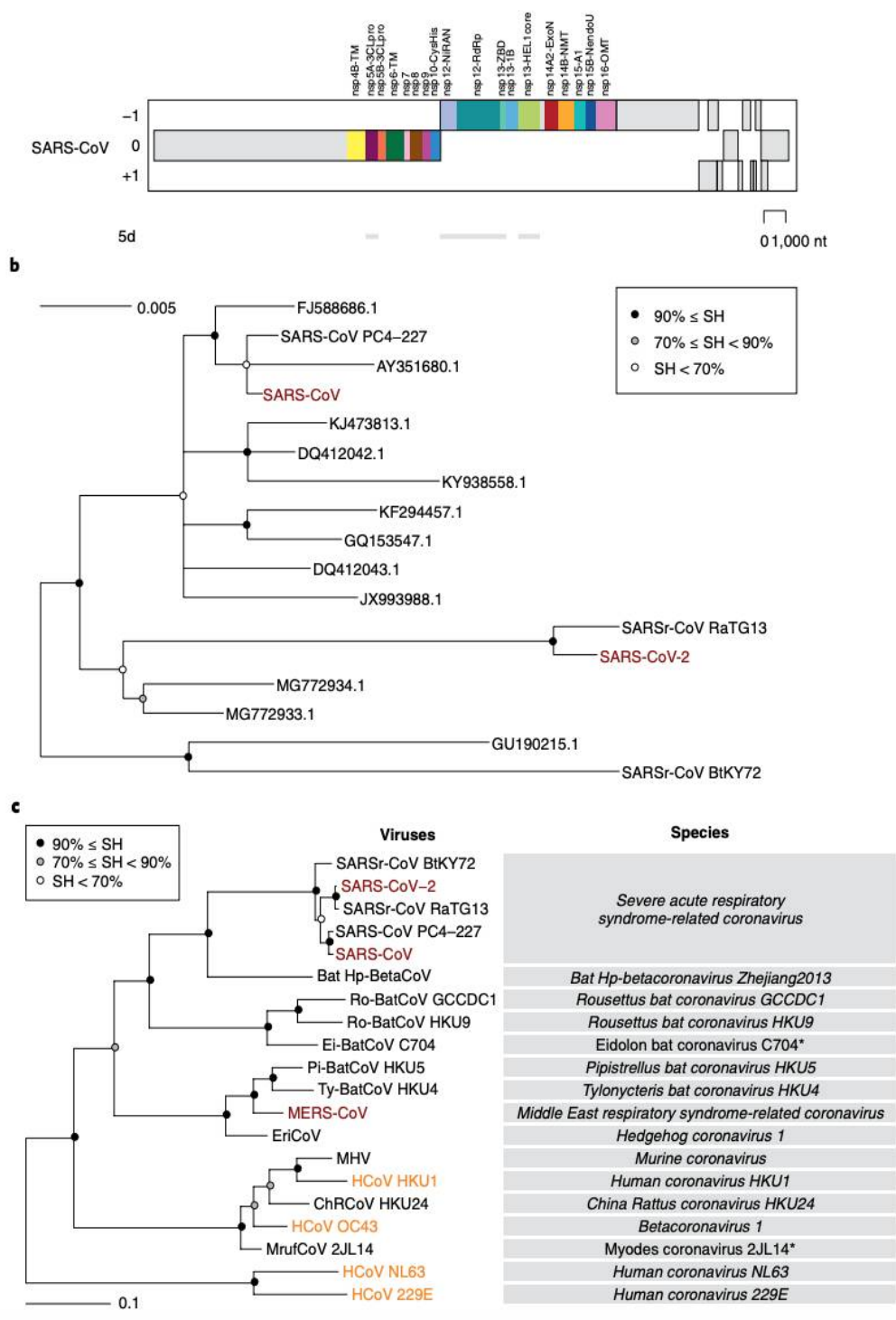


Figure 4 : Phylogénie des Coronavirus (15)

## B. Caractéristiques structurales

Le SRAS-CoV-2 est un virus sphérique enveloppé de 60-220 nm de diamètre.

Morphologiquement on distingue de l'extérieur à l'intérieur : L'enveloppe qui porte la glycoprotéine S, la membrane et la nucléocapside icosaédrique à symétrie cubique qui contient le génome viral. ( figure 5)

- Le SRAS-CoV-2 a un génome viral monocaténaire non segmenté à polarité positive de 29,9 kb.

- L'enveloppe est faite d'une bicouche de phospholipides qui est recouverte de la protéine Spike et l'hémagglutinine estérase.

• Glycoprotéine S : C'est à cause de cette glycoprotéine que l'on confère le nom de « virus à couronne » visible sous microscope électronique. Il s'agit d'une glycoprotéine membranaire de type 1 qui facilite la liaison du virus aux cellules qui permet la fusion des cellules et induit donc la production d'anticorps neutralisants. La sous unité S1 : périphérique associée à des fonctions de liaison aux récepteurs.

La sous unité S2 : transmembranaire qui permet la fusion des membranes virales et cellulaires.

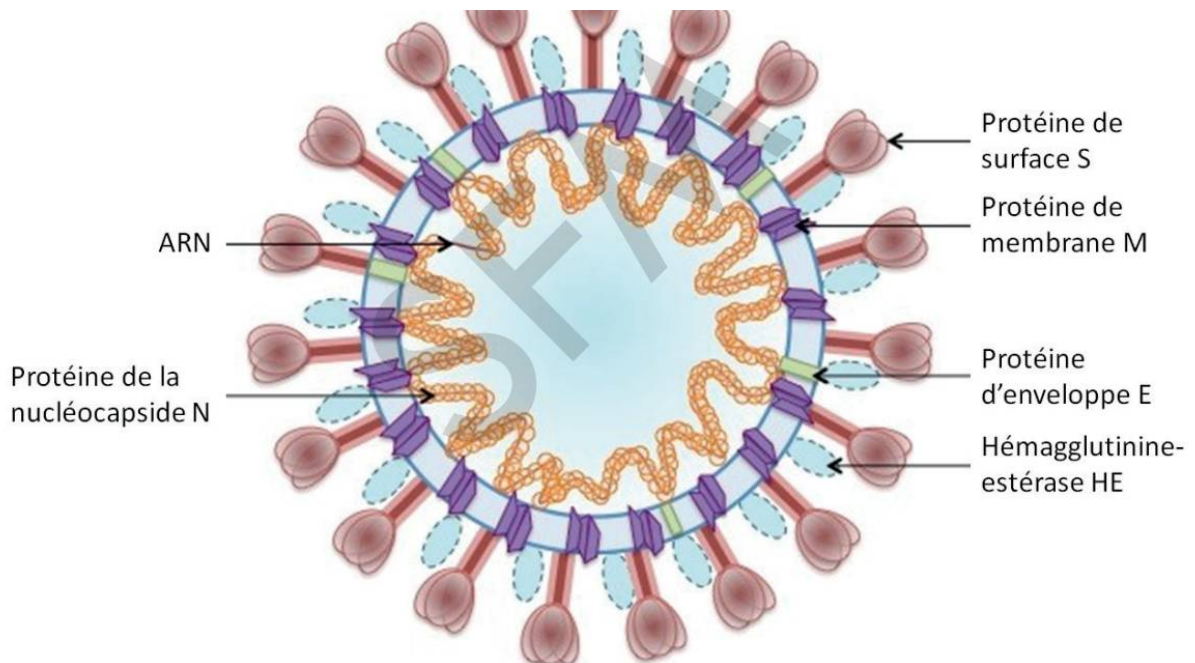
• Le domaine RBD (Receptor Binding Domain) de la protéine S possède un acide aminé de plus que les RBD des autres SRAS-CoV ce qui lui confère une affinité supérieure pour les récepteurs bronchiques. Le domaine RBD se lie au récepteur ACE 2 (Angiotensine Convertase) présent à la surface des cellules bronchiques, entérocytes et d'autres cellules ce qui lui permet l'endocytose.

- La protéine de membrane ou matrice M : elle dirige les interactions entre les protéines qui sont indispensables pour l'assemblage des virus après sa liaison à la nucléocapside.

- La protéine d'enveloppe E : il s'agit d'une protéine structurale, elle permet l'assemblage et la libération du virion hors de la cellule infectée.

- L'hémagglutinine estérase HE présente chez les Betacoronavirus de classe A (16) possède une activité acétyl estérase qui permet le relargage des particules virales à partir des cellules infectées.

- La protéine de la nucléocapside N : fixe le génome à l'ARN du coronavirus. Elle a un rôle dans la réplication de l'ARN viral et dans la réponse cellulaire de l'hôte à l'infection virale.



**Figure 5** : Structure du SARS-COV-2 (14)

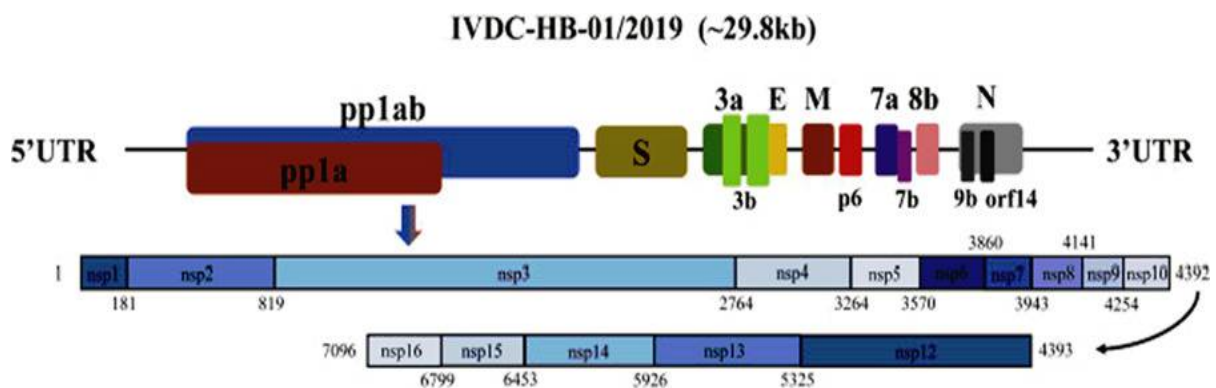
## C. Génome

Le génome du SRAS-CoV-2 est composé d'un ARN simple brin de polarité positive d'une taille qui varie entre 29,8 kb à 29,9 kb (17). Il s'agit du plus grand génome à ARN viral.

Il y a 14 cadres de lecture ouvert, les ORF (Open Reading Frame) qui codent pour 27 protéines :

- 2/3 du génome correspondent aux ORF1a et ORF1b qui codent pour 16 protéines non structurales différentes (nsp1- nsp16) et sont impliqués dans le domaine réplécase.
- 1/3 du génome correspondent aux ORF3a, ORF3b, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8a, ORF8b, ORF9b, ORF9c et ORF10 qui codent pour 4 protéines structurales (S, E, M et N) et 10 protéines accessoires.

A chaque extrémité du génome se trouvent des régions UTR, c'est des régions non codantes sous le nom de 5'UTR et 3'UTR. Ces régions sont courtes, 230 bases et sont importantes (18, 19). Comme le souligne la figure 6 .



**Figure 6** : Représentation schématique du génome du SRAS-CoV-2 (63)

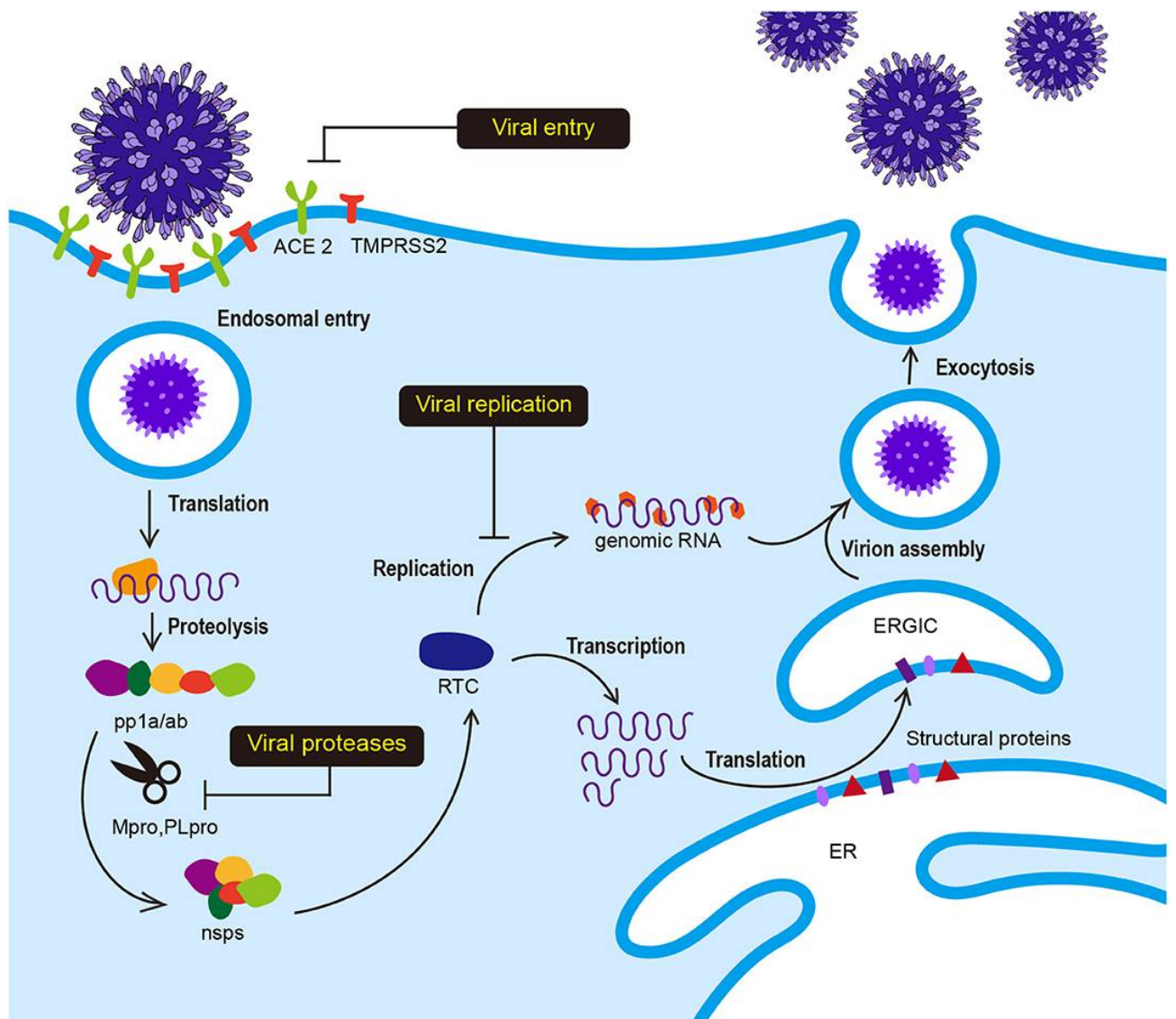
## D. Cycle de réplication viral

Il y a trois phases : Précoce-immédiate, immédiate et tardive. Comme vu précédemment, la protéine S est une protéine clé dans l'infection des cellules. En effet, la sous unité S1 permet la liaison du virus au récepteur de la cellule hôte et la sous unité S2 quant à elle assure la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire. Le RBD permet la liaison au récepteur ACE2 (le plus souvent) (21, 22, 23). Quand la S1 est liée à son récepteur, deux clivages protéolytiques successifs sont nécessaires. Le premier, coupe la protéine S en S1 et S2. Le second libère l'extrémité du peptide de fusion qui amorce la fusion du virion avec la cellule. La protéine S intègre une séquence d'activation au site de clivage dit S1/S2 comme dans les virus de la grippe. La protéine S peut être clivée grâce à une protéase que l'on trouve dans le plasma : la furine (TMPRSS2 : Transmembrane Protéase Sérine 2).

Une fois dans la cellule, après décapsidation, la protéine N bloque la production d'interféron.

Au même moment, l'ARN viral est traduit par les ribosomes de la cellule hôte. Il y a synthèse de deux grands polypeptides 1a (pp1a) et 1b (pp1b) à partir de l'ORF1a et de l'ORF1b. Pp1a et pp1b subissent un clivage par des protéinases virales en de nombreuses protéines. Parmi ces protéines, certaines vont s'assembler pour former le CRT ou Complexe Réplicase Transcriptase qui est nécessaire à la réplication en série du génome viral. Il va produire une série d'ARNm sous génomiques qui seront traduits en protéines virales.

Par la suite, protéines virales et l'ARN génomique sont assemblés en virions dans le réticulum endoplasmique de la cellule et l'appareil de Golgi pour être ensuite transportés par des vésicules et libérés hors de la cellule. ( figure 7)



**Figure 7** : Cycle de répllication viral du SARS-CoV-2 (24)



## E. Propriétés physicochimiques

Le SRAS-CoV-2 est un virus enveloppé et donc fragile. Il peut être inactivé par les UV, la chaleur à 56°C pendant 30 min et est sensible à la plupart des désinfectants tels que diéthylester, éthanol 75°, chlore, chloroforme et acide peroxyacétique.

Il est plus stable sur le plastique et l'acier (par rapport au cuivre et papier) (25, 26).

## F. Les variants du SARS-CoV-2

A chaque réplication virale, les virus mutent ou modifient leur matériel génétique ce qui contribue à la création de variants et ce, plus particulièrement chez les virus à ARN (64). Dans le cas du SARS-CoV-2, les variants portent des mutations essentiellement sur la protéine Spike. Comme vu précédemment, cette variabilité génétique pose problème quant à la vaccination et le traitement par sérothérapie, car la protéine spike est la principale cible des anticorps neutralisants.

Les virus évoluent suite à des mutations, insertions/délétions et des recombinaisons. Au fil du temps, elles s'additionnent et présentent un avantage évolutif pour le virus. Il y a un suivi et une mise à jour régulière des variants.

On définit :

- Variants sous surveillance (VUM) : Variant du SARS-CoV-2 qui présente des modifications génétiques soupçonnées d'affecter les caractéristiques du virus, certains éléments indiquant qu'il peut poser un risque futur sans que les preuves de répercussions phénotypiques ou épidémiologiques soient claires à l'heure actuelle, et qui doit donc faire l'objet d'une surveillance renforcée et d'une évaluation répétée en attendant de nouvelles preuves. (Tableau 4)

- Variants à suivre (VOI) : qui présente des modifications génétiques dont on sait qu'elles affectent ou dont on prévoit qu'elles affecteront les caractéristiques du virus telles que la transmissibilité, la gravité de la maladie, l'échappement immunitaire, la capacité d'échapper au diagnostic ou au traitement ; et qui cause une transmission communautaire importante ou plusieurs foyers de COVID-19, dans plusieurs pays, entraînant une prévalence relative croissante ainsi qu'une augmentation du nombre de cas dans le temps, ou d'autres conséquences épidémiologiques observables qui font craindre un risque émergent pour la santé publique mondiale. (Tableau 3)
- Variants préoccupants (VOC) : Un variant du SARS-CoV-2 qui répond à la définition du variant à suivre (voir ci-dessus) et dont on a montré, au moyen d'une évaluation comparative, qu'il est associé à un ou plusieurs des changements suivants, qui ont une certaine importance pour la santé publique au niveau mondial : Augmentation de la transmissibilité ou évolution préjudiciable de l'épidémiologie de la COVID-19 ; OU Augmentation de la virulence ou modification du tableau clinique ; OU Diminution de l'efficacité des mesures de santé publique et des mesures sociales ou des outils de diagnostic, des vaccins et des traitements disponibles. (Tableau 2)

**Tableau 1** : Variants anciennement préoccupants

Dénomination de l'OMS	Lignée PANGO*	Clade GISAID	Clade Nextstrain	Premiers échantillons répertoriés	Date de désignation
Alpha	B.1.1.7	GRY	20I (V1)	Royaume-Uni, septembre 2020	Variant préoccupant : 18 décembre 2020 Variant anciennement préoccupant : 9 mars 2022
Bêta	B.1.351	GH/501Y.V2	20H (V2)	Afrique du Sud, mai 2020	Variant préoccupant : 18 décembre 2020 Variant anciennement préoccupant : 9 mars 2022
Gamma	P.1	GR/501Y.V3	20J (V3)	Brésil, novembre 2020	Variant préoccupant : 11 janvier 2021 Variant anciennement préoccupant : 9 mars 2022

**Tableau 2** : Variants préoccupants actuels (66)

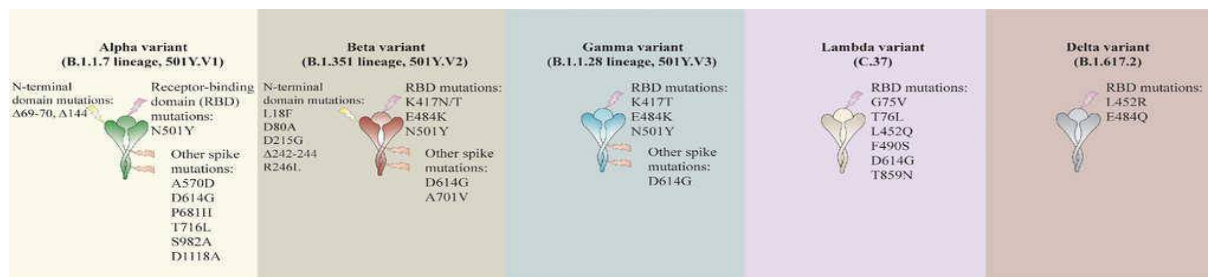
Dénomination de l'OMS	Lignée PANGO*	Clade/Lignée GISAID	Clade Nextstrain	Surveillance des changements supplémentaires d'acides aminés*	Premiers échantillons répertoriés	Date de désignation
Delta	;B.1.617.2	G/478K.V1	21A,21I, 21J	+S:417N +S:K484K	Inde, octobre 2020	VOI : 4 avril 2021 VOC : 11 mai 2021
Omicron*	B.1.1.529	GR/484A	21K	+S:R346K	Plusieurs pays novembre 2021	VUM: 24 novembre 2021 VOC: 26 novembre 2021

**Tableau 3 : Variants à suivre (66)**

Dénomination de l'OMS	Lignée PANGO*	Clade/Lignée GISAID	Clade Nextstrain	Premiers échantillons répertoriés	Date de désignation
Epsilon	B.1.427 B.1.429	GH/452R.V1	21C	États-Unis d'Amérique, mars 2020	Variants à suivre : 5 mars 2021 Variant anciennement à suivre : 6 juillet 2021
Zêta	P.2	GR/484K.V2	20B/S.484K	Brésil, avril 2020	Variants à suivre : 17 mars 2021 Variant anciennement à suivre : 6 juillet 2021
Ëta	B.1.525	G/484K.V3	21D	Plusieurs pays, décembre 2020	Variants à suivre : 17 mars 2021 Variant anciennement à suivre : 20 septembre 2021
Thêta	P.3	GR/1092K.V1	21E	Philippines, janvier 2021	Variants à suivre : 24 mars 2021 Variant anciennement à suivre : 6 juillet 2021
Iota	B.1.526	GH/253G.V1	21F	États-Unis d'Amérique, novembre 2020	Variants à suivre : 24 mars 2021 Variant anciennement à suivre : 20 septembre 2021
Kappa	B.1.617.1	G/452R.V3	21B	Inde, octobre 2020	Variants à suivre : 4 avril 2021 Variant anciennement à suivre : 20 septembre 2021
Lambda	C.37	GR/452Q.V1	21G	Pérou, décembre 2020	Variants à suivre : 14 juin 2021 Variant anciennement à suivre : 9 mars 2022
Mu	B.1.621	GH	21H	Colombie, janvier 2021	Variants à suivre : 30 août 2021 Variant anciennement à suivre : 9 mars 2021

**Tableau 4: Variants sous surveillance actuels (66)**

Lignée PANGO*	Clade/Lignée GISAID	Clade Nextstrain	Premiers échantillons répertoriés	Date de désignation
B.1.640	GH/490R		Plusieurs pays, septembre 2021	22 novembre 2021
XD			France, janvier 2022	9 mars 2022;



Braz J Infect Dis. 2021;25:

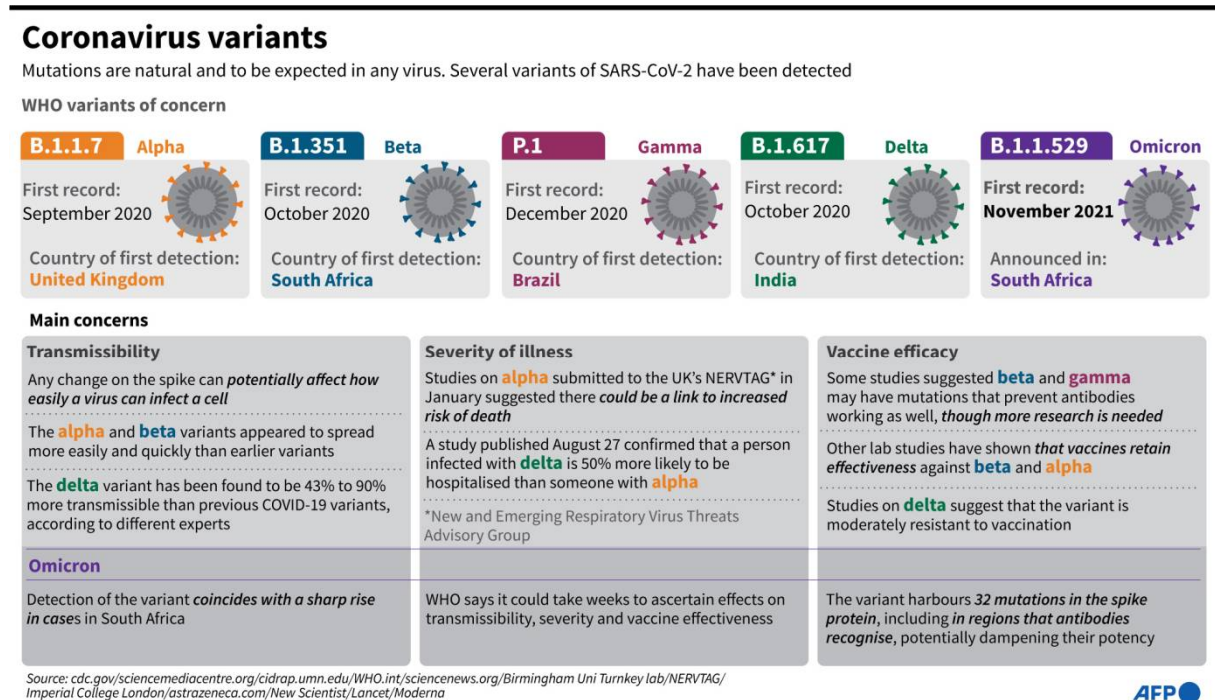
**Figure 8:** Les mutations de la protéine S du SRAS-CoV-2 (67)

Le variant B.1.1.7 (Alpha) présente 23 mutations. Ce variant peut augmenter le risque de décès de 61 % et la gravité de la maladie. le variant B.1.351 (Beta) présente 21 mutation. L'impact de la mutation sur la gravité de la maladie reste inconnu. Le variant P.1 (Gamma) présente 17 mutations. Il est deux fois plus transmissible que le virus de type sauvage selon une étude récente, cependant ceci est uniquement applicable à la cohorte spécifique de Manaus. Le variant B.1.617.2 (Delta) présente 13 mutations. ( figure 8 ) .

Ces mutations sont responsables d'une transmissibilité élevée et d'une augmentation de l'infectivité cellulaire.

Enfin, la lignée B.1.1.529 (Omicron) contient plus de 30 mutations dans la protéine S et parmi elles des mutations qui ont été trouvées dans d'autres variant préoccupants et, qui ont été associés à une transmissibilité accrue et une sensibilité réduite aux anticorps neutralisants, y compris les thérapeutiques. Omicron semble avoir un taux de répllication plus élevé que le Delta et un taux d'attaque secondaire également plus élevé. Il semble échapper à l'immunité humorale et donc se voit associer à lui un risque plus élevé de réinfection chez les personnes qui ont été précédemment infectés par une souche différente. Le risque de gravité de la maladie semble cependant moindre. L'infection est principalement asymptomatique ou présente des symptômes légers.

Tableau 5 : Principales caractéristiques des variants du SRAS-CoV-2



### III. EPIDEMIOLOGIE

#### A. Réservoir du virus

Selon la base des résultats actuels, il y a plus de 20 ans d'évolution séquentielle entre les coronavirus de chauve-souris et le SRAS-CoV-2. Il serait plus probablement le précurseur évolutif probable du SRAS-CoV-2. Les pangolins sont un autre hôte sauvage intermédiaire probablement lié au SRAS-CoV-2. Ils ont acquis les virus après avoir été contaminés par les hôtes naturels. Cependant, aucune preuve n'a démontré l'implication directe des pangolins dans l'émergence du SRAS-CoV-2.

La principale source d'infection interhumaine sont les patients atteints de la COVID-19. Qu'il s'agisse de ceux atteints d'une forme sévère (considérés plus contagieux) ou asymptomatique (30 %) ou en incubation (72, 73).

Par ailleurs, la formation d'un réservoir non humain est une préoccupation majeure. C'est le cas de la propagation du SRAS-CoV-2 de l'homme au vison et du vison à l'homme qui a été signalée une première fois aux Pays Bas, puis en Europe et aux USA (68). Au Danemark, un des modes de propagation du virus est par le biais du vison qui, lors de son passage par ce dernier, le virus aurait acquis une mutation dans le gène de la protéine spike (69).

## **B. Modes de transmission**

La transmission du virus peut être directe ou indirecte. La transmission directe se fait par :

- Voie aérienne : gouttelettes salivaires ou sécrétions des voies aériennes supérieures lors d'une toux, parole, éternuement par un sujet infecté (27, 28)
- Aérosolisation dans l'air des fines gouttelettes (30)
- Transmission oculaire : contamination quand les gouttelettes qui portent le virus entrent en contact avec la muqueuse des yeux par voie directe.
- Transmission oro-fécale et intra-utérine (absence de preuves définitives)

La transmission indirecte se fait par contact avec les surfaces souillées par des gouttelettes du sujet infecté (29) .

## **C. Répartition géographique**

L'épidémie a émergé en Chine le 31 Décembre 2019, de nos jours elle est étendue à l'ensemble du globe. L'OMS a déclaré le statut d'urgence sanitaire en Janvier 2020 et début Mars, l'état de pandémie. Au Maroc, le premier cas a été importé d'Italie en Mars 2020.

A la date du xx/xx/xxxx on dénombre 418 millions cas de COVID 19 au niveau mondial incluant 5,85 millions de décès. Le taux global de décès est estimé à moins de 2%. Au Maroc, à la même date, xx millions et xxxxx décès.

Le second sommet mondial sur la pandémie de coronavirus aura lieu le 12 mai 2022 .

### **Facteurs de risque**

Différents facteurs jouent un rôle important dans la détermination du risque de contracter la COVID-19 (31,32). Parmi ces facteurs, il y a :

- Les déterminants socio-économiques : les personnes qui vivent en promiscuité, la fréquentation des lieux avec une foule ou si non-respect de la distanciation physique.
- Les niveaux d'exposition : le personnel soignant ou ceux en maison d'accueil. L'exposition est considérée comme significative dès 15 minutes (74).
- Les facteurs intrinsèques et les conditions de santé préexistantes : l'âge avancé, la présence de maladies respiratoires ou encore l'immunodépression.
- Mais également les caractéristiques du virus lui-même : par exemple le cas du variant B.1.617.2 (Delta) qui présente une transmissibilité plus accrue par rapport au variant Alpha (70).

Les facteurs de risque qui sont associés à un mauvais pronostic de la maladie sont les suivants:

- Age avancé, obésité et diabète.
- Antécédents de maladies cardiovasculaires : HTA, athérosclérose, infarctus du myocarde ou AVC.



## IV. PHYSIOPATHOLOGIE ET MANIFESTATIONS CLINIQUES

### a. Physiopathologie

Le SARS-CoV-2 se fixe sur les cellules épithéliales du tractus respiratoire et commence à se répliquer et à migrer vers les voies respiratoires inférieures puis pénètre dans les cellules alvéolaires pulmonaire. Et ce, grâce à la liaison avec le récepteur à l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2). La réplication du SARS-CoV-2 pulmonaire est rapide. Elle peut déclencher une forte réponse immunitaire. Les cellules immunitaires, une fois actives, sécrètent des cytokines inflammatoires (IL-1, IL-6 et TNF  $\alpha$ ) dans les cellules endothéliales des artères pulmonaires et par conséquent la synthèse de l'IFN 1 et une hyperperméabilité capillaire ainsi que l'attraction des cellules inflammatoires. Cette voie de l'IFN 1 est centrale et permet d'inhiber la réplication virale, de protéger les cellules non infectées et de stimuler l'immunité lymphocytaire antivirale. Ce qui conduit à la lyse des cellules infectées.

Si cette réponse immunitaire est inefficace, elle entraîne une aggravation clinique chez certains patients, dans les huit jours après l'apparition des symptômes, jusqu'à l'atteinte multi-viscérale et le syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA). On parle d'orage cytokinique qui est, par la suite responsable du syndrome de détresse respiratoire aiguë et de l'insuffisance respiratoire. Dans l'étude de Zhou et al., des taux élevés d'IL-6 circulantes étaient associés à l'apparition d'une forme sévère (même si moins élevées que celles dans le sepsis bactérien) liée à l'activation de la voie NFkB (36). D'autres hypothèses peuvent expliquer l'hypersécrétion cytokinique parmi elles l'hémophagocytose lympho-histiocytaire.

La sécrétion de cytokines pro-inflammatoire entraîne le dépôt de fibrine et le recrutement de cellules mononuclées responsable d'une activation plaquettaire ayant pour conséquence une hypercoagulabilité associée à une hypo-fibrinolyse (37).

Il y a également, une forte lymphopénie dans les formes sévères de la maladie sans déséquilibre du ratio CD4/CD8 qui s'associe à l'expression de gènes pro-apoptotiques.

L'atteinte multi-viscérale peut être due au virus du SARS-CoV-2 ou à la une réponse immunitaire accrue au vu de la présence de l'ACE2 à la surface des membranes cellulaires au niveau du cœur, reins, intestins et artères (33, 34, 35).

## **B. Aspects cliniques de la COVID-19**

### **1. Durée d'incubation et contagion**

La période d'incubation moyenne du SARS-CoV-2 est de 5 à 6 jours et au maximum 14 jours. Il faut distinguer la période de contagiosité et celle d'incubation : la période de contagiosité est de 2 à 4 jours avant l'apparition des symptômes et à peu près 7 à 10 jours après.

Il y a quatre tableaux cliniques différents :

- Les sujets infectés asymptomatiques
- Les formes légères à modérées
- Les formes sévères
- Les formes critiques

### **2. Forme asymptomatique et symptomatique**

L'incidence des cas asymptomatiques de SARS-CoV-2 varie de 1,6% à 51,7% (82), (83). Ces cas n'ont pas de symptômes, ils peuvent présenter des anomalies à la tomodensitométrie pulmonaire (TDM).

Concernant les formes symptomatiques, il y a beaucoup de manifestations cliniques qui peuvent aller d'une atteinte légère, modérée à grave et ce, de manière progressive ou fulminante. On distingue deux types de symptômes, ceux non spécifiques : fièvre, toux, fatigue, dyspnée et myalgie. Et ceux qui sont non spécifiques: Expectorations, maux de tête, hémoptysie, vomissements, diarrhée, perte de l'odorat (anosmie) ou de goût (aguesie) (38, 39).

Les signes radiologiques caractéristiques sont les opacités en verre dépoli, multifocales, bilatérales et asymétriques. La localisation peut être sous pleurale à prédominance basale et postérieure. Dans les formes graves, la condensation pulmonaire est plus élevée.

Chez la plupart des patients, biologiquement, on note un taux élevé de C-Réactive Protéine, transaminases, ferritine, LDH, créatine kinase et des D-Dimères. Au niveau de la Numération de la Formule Sanguine (NFS), on note une lymphopénie et une thrombopénie ainsi qu'une leucopénie.

### **3. Forme graves et modes d'évolution**

Entre 6,5 et 31,7% des patients hospitalisés sont admis en soins intensifs et 29% développent une détresse respiratoire aiguë avec nécessité d'usage d'une ventilation mécanique invasive. (31, 39). L'évolution de la maladie peut aboutir à la persistance de symptômes jusqu'à un mois après guérison et persistance des lésions pulmonaires chez certains patients.

Le tableau 5 résume les formes cliniques de la COVID-19 et ses complications.

**Tableau 6** : Les formes cliniques de la COVID-19 et ses complications

Sévérité de la maladie	Tableau clinique
<b>Formes asymptomatiques</b>	Absence de signes cliniques Test RT-PCR + Examen Radiologique normal
<b>Formes légères</b>	Fièvre, Myalgie, Fatigue, Pharyngite Manifestations digestives type : Nausées, vomissements, douleurs abdominales et diarrhées.
<b>Formes modérées</b>	Pneumonie sans hypoxémie Lésions pulmonaires à la TDM
<b>Formes sévères</b>	Pneumonie avec hypoxémie la saturation en oxygène est inférieure à 92 %
<b>Formes critiques</b>	SDRA : Syndrome de Détresse Respiratoire Aigue
Complications fréquentes	Etat de Choc Coagulopathie Encéphalopathie Insuffisance cardiaque, respiratoire et rénale aigue Sepsis CIVD Atteinte hépatique Embolie pulmonaire Rhabdomyolyse Inflammation multi systémique
Complications rares	Aspergillose Pancréatite Anémie hémolytique auto immune Complications neurologiques

## C. Réponse immunitaire de l'hôte.

Lors d'une infection par le SRAS-CoV-2, le système immunitaire active l'immunité innée qui est la première ligne de défense et suivie ensuite par l'immunité adaptative. L'immunité innée est conditionnée par les interactions entre les cellules épithéliales et les cellules immunitaires, sous la médiation des cytokines et des contacts entre cellules. La réponse immunitaire adaptative se base sur l'immunité cellulaire dont font partie les lymphocytes T CD4 + et CD8 + et les cellules NK et l'immunité humorale par des anticorps produits par les lymphocytes B. La réponse humorale contre le SRAS-Cov-2 se traduit par la production d'anticorps neutralisants qui se dirigent contre les protéines virales S et N.

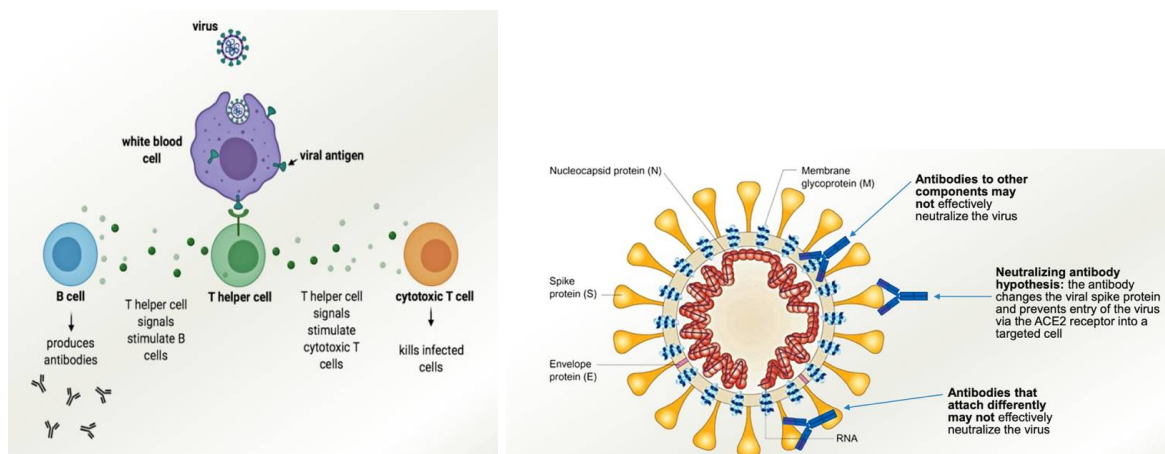


Figure 9 : Réponse immunitaire aux infections virales. (84)

## **V. ROLE DU LABORATOIRE DANS LE DIAGNOSTIC DE LA COVID-19**

### **A. Mesures de précaution : Sécurité au laboratoire**

La biosécurité est un élément clé et nécessaire. Il protège le manipulateur et l'environnement, de ce fait le diagnostic virologique ne peut avoir lieu que dans un laboratoire spécialisé.

Les prélèvements respiratoires sont à haut risque, ils doivent être traités dans un laboratoire de sécurité biologique de niveau 2 (LSB2) avec un poste de sécurité microbiologique (PSM) (40). La culture virale, méthode de diagnostic directe, qui n'est pas utilisée en routine, nécessite quant à elle un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 (LSB3).

Le personnel de laboratoire doit être équipé avec un équipement de protection individuel incluant des gants jetables, une blouse, une coiffe, des sur-chaussures et une protection oculaire ainsi que respiratoire.

### **B. Diagnostic biologique d'orientation**

Comme vu précédemment, on peut noter certaines anomalies biologiques qui viennent à orienter le diagnostic, parmi ces anomalies on retrouve (41) :

- Dans la Numération de la Formule Sanguine (NFS) : une neutropénie et une lymphopénie.
- Concernant le bilan de l'inflammation : une CRP augmentée, une vitesse de sédimentation accélérée, une ferritine élevée.
- Concernant le bilan de la coagulation : un temps de quick allongé, des D-Dimères élevés.
- Également, une CK-MB, des transaminases et une LDH élevées.

## **C. Diagnostic de certitude**

### **1. Diagnostic direct**

#### **a- Types de prélèvements réalisés pour le diagnostic et leur préparation**

Le type de prélèvement dépend du stade de l'infection qu'elle soit précoce ou au stade de pneumonie. Au stade précoce, les prélèvements naso ou oropharyngés qui sont obtenus par un écouvillonnage du nez ou de la gorge ou du naso-pharynx sont les plus utilisés. Il s'agit du prélèvement de référence (42). Au stade de pneumonie, on a recourt à des prélèvements profonds c'est-à-dire aux crachats induits non contaminés par la salive dans le cas où le patient est non intubé. Dans le cas contraire, il faut avoir recours à une aspiration trachéale ou un LBA (Lavage Broncho Alvéolaire) (43).

Le virus peut être également recherché dans le sang et les selles, même si comme vu précédemment, aucune documentation quant à sa transmission par voie fécale n'a été démontrée (44). Cependant, une mise en évidence de l'excrétion virale dans les selles a pu être mise en évidence ainsi que dans les voies respiratoires.

L'extraction ainsi que la purification du matériel génétique se fait par lyse cellulaire suivi de la dénaturation de l'ARNase et des protéines et enfin la purification de l'ARN.

Cette purification peut se faire par différentes techniques : l'usage de billes magnétiques, l'isolement sur micro-colonnes ou plus rarement l'usage des solvants organiques.

#### **b- Diagnostic direct moléculaire**

##### **(i) RT-PCR en temps réel**

Les gènes cibles de la détection du SARS-CoV-2 comprennent les gènes qui codent pour les protéines N, E, S et RdRp situé dans l'ORflab. En fonction du gène

cible, la spécificité analytique est modifiée. Par exemple, le gène N peut avoir des réactions croisées avec les autres coronavirus, à l'inverse, le gène S et RdRp sont très spécifiques du SARS-CoV-2.

Le principe de la RT-PCR en temps réel est en trois temps :

- La transcription inverse des ARN en ADN complémentaire
- L'amplification du génome viral
- La détection grâce à des sondes fluorescentes

La PCR c'est-à-dire la polymérisation en chaîne, amplifie l'ADNc de manière exponentielle.

L'ADN qui est amplifié est détecté et ce, en temps réel. Quand un nouveau brin d'ADN est synthétisé, la sonde hybridée par exemple la sonde TaqMan est clivée, le fluorophore est retiré ce qui génère la fluorescence. L'intensité de la fluorescence reflète l'amplification en temps réel des séquences d'ADN. On définit le Ct, Cycle Threshold, comme étant le nombre de cycles de réplication nécessaires pour avoir un signal fluorescent en dessus de la ligne de base de la fluorescence. Plus le Ct est faible, plus la charge virale est élevée. Le pouvoir infectieux du virus est inversement proportionnel à la valeur de Ct et à la proximité avec le début des symptômes.

La réaction de PCR nécessite 3 à 4 heures. Il y a des alternatives plus rapides comme le BioFire® (bioMérieux), Xpert® (Cepheid) permettent d'obtenir un résultat beaucoup plus rapide en une heure. Hormis l'avantage temps, ils ne nécessitent pas un équipement adapté et encore moins un personnel qualifié. On peut également détecter le SARS-CoV-2 simultanément avec d'autres virus respiratoires ou même bactéries par l'usage de la PCR multiplex panel respiratoire. Cependant, ils ont un coût élevé et ne peuvent être utilisés dans des séries importantes d'analyse mais présentent un intérêt en urgence.



La RT-PCR digitale est une variante technologique, au sein d'une puce microfluidique ont lieu plusieurs milliers de réactions. Elle permet tout comme la RT-PCR de quantifier la charge virale. Elle commence à être appliquée au diagnostic du SARS-CoV-2 car elle est très sensible.

On peut contrôler la qualité du prélèvement en amplifiant un gène cellulaire ce qui permet de s'assurer que l'échantillon biologique contient des cellules humaines en quantité suffisante .

Également, le contrôle d'interne d'amplification permet de vérifier qu'il n'existe pas d'inhibiteurs de PCR dans l'échantillon (45).

Les stratégies de pooling d'échantillons, qui existent depuis de nombreuses années, pour dépister des maladies infectieuses ont été appliquées aux tests SARS-CoV-2. Le pooling consiste à créer un échantillon mixte à partir de plusieurs échantillons à tester (cinq au Maroc). Les protocoles varient en fonction des laboratoires et des patients à tester : entreprises, foyers de personnes âgées.... Le pooling permet de tester jusqu'à 85% de patients en plus, par protocole hiérarchiques et ceux non hiérarchiques. Les faux positifs sont rares mais les faux négatifs ne le sont pas, liés à une charge virale faible ou tout simplement l'effet de dilution (46).

### **(ii) L'amplification isotherme**

Les techniques d'amplification isotherme sont au nombre de trois : Transcription-mediated amplification (TMA), l'amplification isotherme médiée par les boucles ou Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) et enfin Nicking and extension amplification reaction (NEAR). Il s'agit d'une amplification à température constante et donc sans thermocycleur.

◇ Transcription-mediated amplification ( TMA)

La TMA est une des techniques les plus utilisées, elle amplifie l'ARN et non l'ADN comme la PCR. Elle utilise la combinaison de deux enzymes : une transcriptase inverse et une ARN polymérase de type T7. Cette technique est commercialisée par la société Hologic . Elle a une sensibilité quasi similaire à celle de la RT-PCR et reste moins influencée par la présence d'inhibiteurs mais cependant, elle ne permet pas de semi quantification .

◇ L'amplification isotherme médiée par les boucles ou Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) :

Cette technique utilise trois paires d'amorces : deux amorces internes, deux amorces externes et deux amorces en boucle . Plusieurs tests ont été mis au point pour cibler différentes régions du génome du SARS-CoV-2 par lecture de fluorescence ou colorimétriques, soit par fluorescence à la calcéïne ou par lecture colorimétriques par un indicateur de pH. Ils ont un coût modeste et faciles à mettre en œuvre et sont destinés plutôt à des déterminations individuelles . Ils fournissent un résultat en moins d'une heure et ne nécessitent ni personnel qualifié ni équipements adaptés.

La sensibilité est moins élevée que celle de la RT-PCR mais reste suffisante pour déterminer les patients ayant une forte charge virale (47). Cette technique reste limitée : en effet, il n'existe pas assez d'études comparatives à grande échelle et donc la HAS ne recommande pas l'usage à partir d'échantillon salivaire (48). Elle reste cependant intéressante dans le cas de situations particulières type urgence ou aéroports.

◇ Nicking and extension amplification reaction (NEAR)

Cette technique utilise une ADN polymérase, deux amorces spécifiques de la cible à rechercher, une enzyme de restriction : nicking enzyme. Le signal positif est

déecté par l'émission de fluorescence. Elle est commercialisée par Abbott Diagnostics pour le diagnostic rapide de l'infection à SARS-CoV-2 (test ID NOW COVID-19). Elle est simple et rapide (15 min). Tout comme la LAMP, elle est destinée à un usage rapide, en urgence et individuel. Elle présente cependant, un manque de sensibilité, mis en évidence dans des études (47).

D'autres techniques d'amplification isotherme sont apparues et prometteuses : RPA (recombinase polymérase amplification ) utilisée dans le test COVID-19 Penn-RAMP ou d'autres techniques couplées à une détection du type CRISPR/Cas. Dans le cas de la détection CRISPR/Cas elle existe déjà, couplée à l'amplification RT-LAMP : SARS-CoV-2 DETECTR et STOP-Covid. Il s'agit de techniques très prometteuses.

### **(iii) Séquençage nucléotidique à haut débit**

Il s'agit des techniques NGS (Next Generation Sequencing) qui permettent de séquencer des acides nucléiques et ce, à haut débit. Les techniques NGS ne concernent pas uniquement le SARS-CoV-2 mais également d'autres virus respiratoires pathogènes. En plus de mettre en évidence le virus, il permet de détecter les variants et donc de suivre les mutations même en l'absence de tout renseignement préalable. Le site de GISAID permet de disposer de 380 000 génétiques concernant le SARS-CoV-2. Cependant, ces techniques restent limitées par leur délai de réalisation ainsi que le temps d'analyse des données.

### **c. Diagnostic direct antigénique**

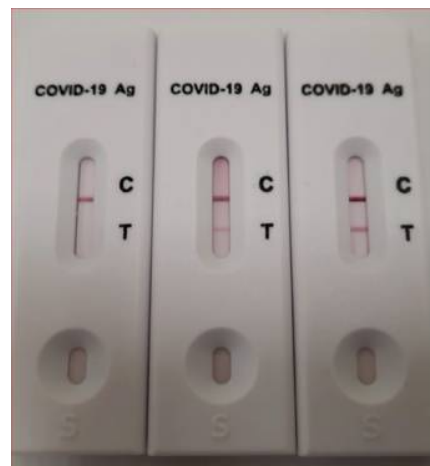
Les tests antigéniques sont réalisés sur les prélèvements oro ou nasopharyngés ou encore nasaux et ont pour principe de détecter une des protéines du virus du SARS-CoV-2. Le plus souvent, il s'agit de la protéine de la nucléocapside NP. Le principe est par immunochromatographie, l'interprétation est visuelle (49, 50). Ils permettent de faire le diagnostic en phase précoce et donc d'accélérer et de faciliter le dépistage mais aussi de réduire la transmission virale. L'efficacité des tests antigéniques semble être

liée à la charge virale. Ils sont efficaces dans le cas d'une charge virale élevée. Leur utilisation dans le cadre d'un dépistage de masse ou ciblé est encore en cours d'étude afin de dépister les patients asymptomatiques ou pauci-symptomatiques dits les « supercontaminateurs ».

Le résultat est rapide de l'ordre de 15 à 30 minutes. Ils sont la plupart sous forme de tests unitaires (Test de diagnostic rapide : TDR ou Test rapides d'orientation diagnostique TROD) que l'on peut réaliser dans des laboratoires d'analyse médicale ou non. ( Figure 14)

Ils présentent une bonne valeur prédictive positive c'est-à-dire que si un test antigénique est positif il y a une infection mais s'il est négatif cela ne l'exclut pas.

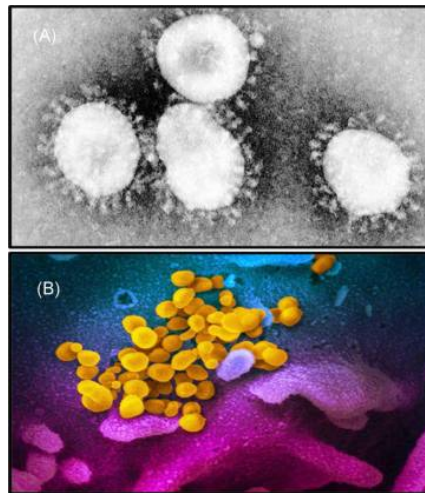
Les tests antigéniques présentent un inconvénient : la sensibilité diminue amplement après le 4<sup>ème</sup> jour des symptômes. La HAS précise les critères de performances cliniques retenues pour valider les tests, une sensibilité clinique supérieure ou égale à 80 % et une spécificité clinique supérieure ou égale à 99% chez les sujets symptomatiques. Il est proposé de prendre en considération les résultats des tests antigéniques que durant les sept jours suivant l'apparition des symptômes (85).



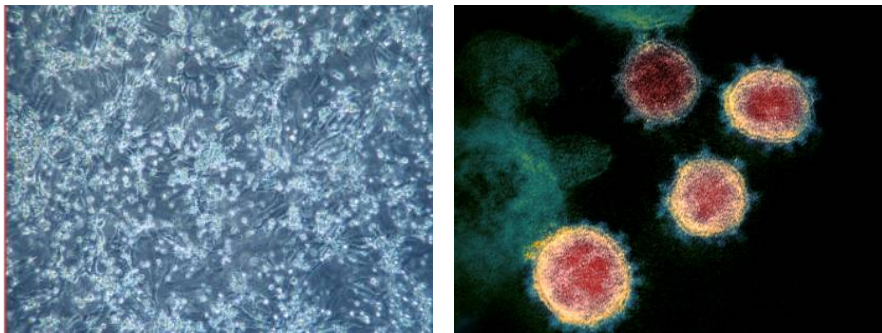
**Figure 10:** Illustration d'un test immunochromatographique

## b. Culture cellulaire

Le SARS-CoV-2 est facile à cultiver sur les lignées cellulaires parmi elle la lignée continue Véro 6 issue de reins de singe vert. Il doit être cultivé dans des conditions de confinement L3 car il est hautement pathogène (51). La culture cellulaire a un intérêt non négligeable dans la recherche, elle permet d'isoler de nouveaux variants et d'étudier la réponse humorale.



**Figure 11:** A- Images de coronavirus sous microscope électronique  
B- Particules virales émergente de cellules mises en culture sous microscope électronique à balayage (63)

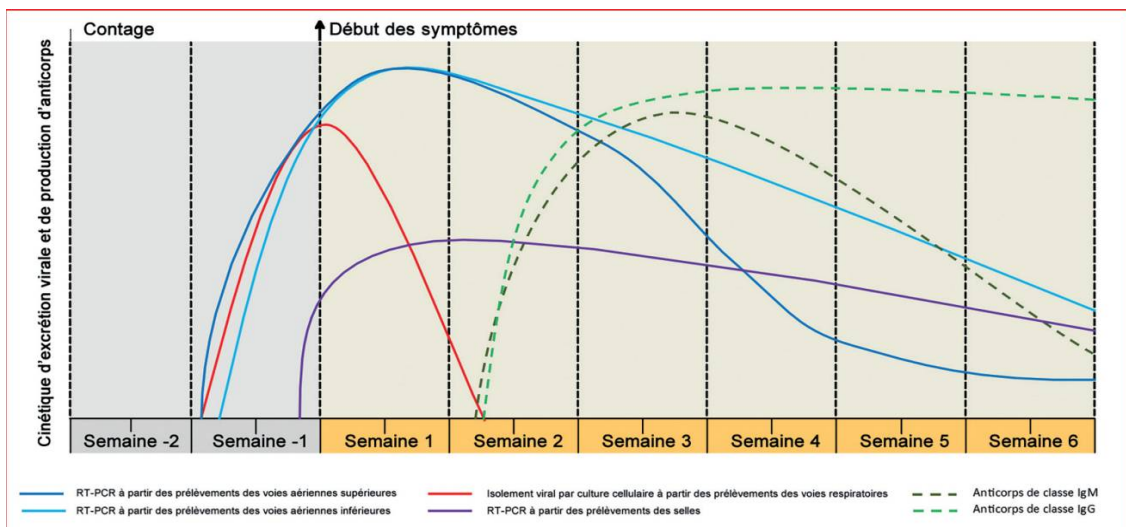


**Figure 12:** SARS- CoV-2 au microscope électronique à la surface de cellules cultivées (52).

Figure 12: Effet cytopathogène du virus SARS-CoV-2 (52)

## 2. Diagnostic indirect

La réponse immunitaire est de 40 jours environ. Les Ig M apparaissent 5 à 10 jours après le début des symptômes et les Ig G, 12 à 14 jours. Les anticorps neutralisants sont détectés 7 jours après le début des symptômes ils sont dirigés contre le domaine RBD (Receptor Binding Domain) de la protéine Spike et la protéine N. Cependant la présence d'anticorps neutralisants ne traduit pas forcément une immunité protectrice.



**Figure 13:** Cinétique des marqueurs du diagnostic virologique de l'infection SARS-CoV-2 (66)

Les prélèvements sont d'ordre sanguins : sang total prélevé sur tube avec ou sans anticoagulant. Les biomarqueurs recherchés peuvent être des Ig G, Ig M ou Ig A ou totales et dirigées contre une ou plusieurs protéines virales. Ils indiquent un contact antérieur avec le virus mais leur absence n'exclut pas cette possibilité. Il existe des formes où le virus n'est pas détecté dans les prélèvements respiratoires, dans ce cas la recherche d'Ig M ou Ig A, témoins d'une infection récente présente un intérêt dans 20% des cas.

Ils permettent donc de documenter une infection passée ou dans le cas où la RT-PCR n'est pas détecté dans les sécrétions respiratoires (54).

Les indications des tests sérologiques selon la HAS concernent quatre situations :

- Le diagnostic initial de patients symptomatiques graves hospitalisé ou sans signe de gravité suivis en ville si le tableau clinique d'infection par le SARS-CoV-2 et de test RT-PCR négatif
- Le diagnostic de rattrapage de patients symptomatiques graves hospitalisés ou sans signe de gravité suivis en ville, mais n'ayant pas pu faire l'objet d'un test RT-PCR
- Dépistage pré vaccinal (depuis le 3 juin dernier)
- Pertinence pot vaccination chez les patients immunodéprimés.

La HAS rappelle que ces tests sérologiques, automatisables ou rapides, peuvent être réalisés à partir du 7ème jour qui suit l'apparition des symptômes pour les patients symptomatiques graves hospitalisés et à partir du 14ème jour qui suit l'apparition des symptômes pour les patients symptomatiques sans signe de gravité (86).

Il existe différentes trousse qui sont commercialisées, les antigènes utilisés sont les protéines structurales du virus : la protéine S et/ou la protéine N. La combinaison des deux protéines présente une meilleure sensibilité qu'une des protéines seule.

La sensibilité et la spécificité d'un test dépend de plusieurs facteurs : la technique employée, le choix de l'antigène et le moment du prélèvement. Il existe quatre types de tests : les tests qui reposent sur une méthode immunoenzymatique (ELISA), ceux qui reposent sur une méthode immunochromatographique, ceux qui reposent sur une méthode immunologique par chimiluminescence (CLIA) et pour finir ceux de séroneutralisation.

Les tests immunoenzymatiques (ELISA) présentent l'avantage majeur d'analyser un grand nombre de sérum. La détection de l'anticorps repose sur l'immobilisation d'un antigène de capture connu sur la plaque. L'anticorps de détection est marqué par

une enzyme. Un substrat est ajouté et interagit avec l'enzyme ce qui provoque un changement colorimétrique qui correspond à la présence et la concentration de l'anticorps.

La chimiluminescence type CLIA repose sur l'utilisation d'un marqueur luminescent qui peut émettre un rayonnement par méthode hétérogène le plus souvent. Elles peuvent être directes avec des luminophores ou indirectes avec des marqueurs enzymatiques. La sensibilité et les intervalles de mesures sont supérieures à ceux des tests ELISA.

Les tests immunochromatographiques sont unitaires, et durent moins de 15 min, ils détectent les Ig M ou les Ig G ou les anticorps totaux. Il s'agit de tests de type TROD, qui peuvent être réalisés hors du laboratoire d'analyses médicales. Ils fonctionnent par capillarité : la membrane de nitrocellulose est pré-fonctionnalisée avec des anticorps de capture et de détection et des nanoparticules d'or ou colorée pour générer les lignes colorées. Le kit utilisé doit être certifié CE ou FDA et répondre aux procédures de contrôle qualité (53).

Les tests de séroneutralisation sont utilisés dans la recherche, ils utilisent le virus infectieux ou des pseudo-particules virales qui peuvent entrer dans les cellules sensibles sans réplication.

Ils mesurent le nombre d'anticorps neutralisants.

A l'issue de ces tests :

- Ig A et/ ou Ig M positives suggèrent une infection récente par le SRAS-CoV-2
- Des titres Ig G croissants suggèrent une infection récente
- N.B : Si la sérologie est positive elle ne signifie pas une immunité à l'infection/réinfection. Il existe des faux positifs en raison des autres coronavirus



## II. MOYENS THERAPEUTIQUES ET PROPHYLACTIQUES

Afin de limiter la transmission du virus et d'isoler les cas, des mesures ont été prises à l'échelle nationale et mondiale qu'elles soient thérapeutiques ou à visée prophylactiques.

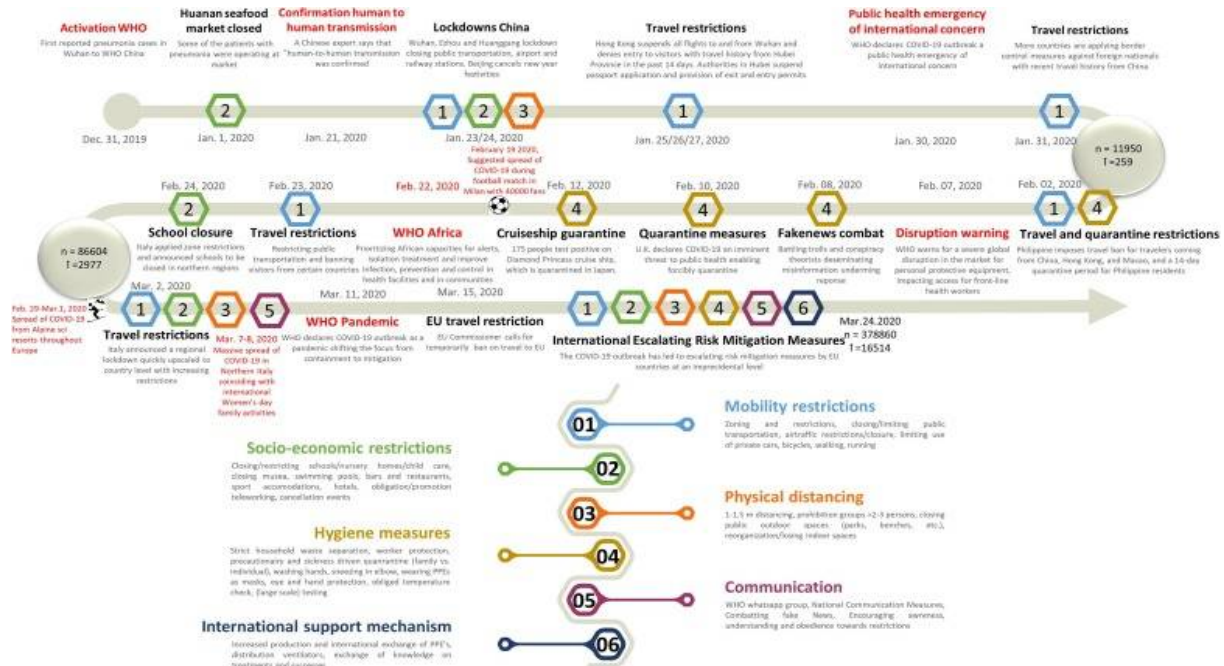


Figure 14: Chronologie des événements et application des mesures (62)

### A. Traitement

Il n'existe pas de traitement spécifique prouvé et recommandé contre la COVID-19.

Le traitement recommandé selon l'OMS est un traitement symptomatique associé à un isolement afin d'éviter toute transmission du virus. Le traitement est composé d'un antipyrétique ainsi que, selon la circulaire N°63, du ministère de la Santé marocain, de la chloroquine à raison de 2 fois par jour associée à de l'azythromycine (55, 56).

Dans le cas de formes sévères à graves, l'hospitalisation avec assistance respiratoire invasive ou non est recommandée. Un suivi biologique régulier est nécessaire ainsi qu'éventuellement si surinfection, une antibiothérapie adaptée (55).

## **B. Prévention**

### **1. Prévention individuelle**

Lié à la rapidité de transmission et de propagation du virus, la mise en place de gestes barrières est essentielle quant à la maîtrise de la pandémie. Il faut agir sur trois aspects :

- La prévention de la transmission par contact direct et ce, par l'utilisation de solution hydroalcoolique et le lavage régulier des mains,
- La prévention de la transmission par contact indirect, à travers le nettoyage régulier des surfaces avec des solutions d'hypochlorite de sodium diluée (Javel),
- Enfin, la prévention de la transmission aérienne par le respect d'une distance d'au moins 1 m et l'usage de masques FFP2 ou chirurgicaux, en plus des réflexes d'hygiène (tousser et éternuer dans son coude et utiliser des mouchoirs à usage unique).

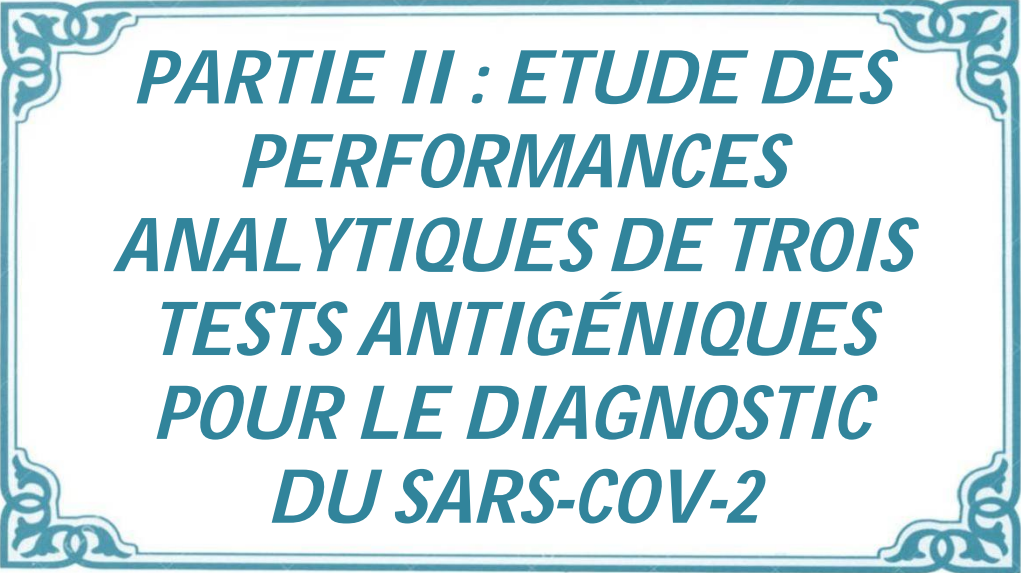
### **2. Prévention collective**

Elle concerne la vaccination des populations mais aussi le dépistage dans les milieux à haut risque qu'ils soient liés à des événements collectifs ou des établissements collectifs. Il existe différents types de vaccins contre la COVID-19 : les vaccins à virus inactivés, ceux à base de sous-unité protéiques, ceux à vecteur viral et ceux à ADN ou ARNm.

Les effets indésirables reportés sont d'intensité légère à modérée, communs à toute vaccination en général de type douleur au point d'injection, fatigue, myalgie, fièvre. Les effets indésirables d'intensité plus importante sont classés par grade et mis à jour régulièrement sur le site de l'OMS.

**Tableau 7:** Table résumée des vaccins contre la COVID-19 (87)

	Vaccins anti COVID 19	Immunogénicité	Viabilité
<b>Acides nucléiques</b>	Pfizer/BioNtech*	ARNm (S1)	Inerte
	Moderna/NIH*	ARNm (S1)	Inerte
	Sanofi/translateBio	ARNm	Inerte
	CUREVAC*	ARNm	Inerte
	Inovio	ADN (S)	Inerte
	Arcturus/Duke	ADN autorep (S)	Inerte
	Entos	ADN (N)	Inerte
<b>Protéine recombinante</b>	NovaVax	Nanoparticules Ag	Inerte
	GSK/Sanofi*	Pseudocapside adjuvant AS03	Inerte
	Medicago	PseudocapsideTMV	Inerte
<b>Vaccins viraux vectorisés</b>	AZ/Oxford*	vecteur ChAd	Non replicatif
	J&J/Harvard	vecteur AdV26	non replicatif
	Russie MH/GRI	AttenuéV5/26	non replicatif
	CanSinoBio	Vecteur AdVS	non replicatif
	Merck/Pasteur*	Attenué HMeasV	replicatif
	Merck*	Attenué VSV	replicatif
<b>Vaccins viraux Inactivés</b>	SinoPharm/WIBP	SARS-CoV-2 inactivé	Inerte
	SinoVac	SARS-CoV-2 inactivé	Inerte



***PARTIE II : ETUDE DES  
PERFORMANCES  
ANALYTIQUES DE TROIS  
TESTS ANTIGÉNIQUES  
POUR LE DIAGNOSTIC  
DU SARS-COV-2***

## **A- Matériels et méthodes**

### **1- Type, Lieu et période de l'étude**

Il s'agit d'une étude prospective et monocentrique d'une cohorte de 240 patients réalisée au Laboratoire de Virologie (Centre de virologie des maladies infectieuses et tropicales de l'hôpital militaire d'instruction de Mohammed V de Rabat) sur une période d'un mois (janvier 2021).

Les patients inclus dans cette étude ont été répartis en trois groupes de 80 patients chacun.

Le groupe S1 est composé de 80 échantillons qui ont été recueillis de patients symptomatiques et ce, dans les 5 premiers jours de leurs symptômes de J0 à J5.

Le groupe S2 est composé de 80 échantillons qui ont été recueillis de patients symptomatiques de plus de 5 jours, donc à partir de J5.

Le groupe S3 est composé de 80 échantillons de patients asymptomatiques non exposés au virus, à visée de dépistage.

Tous les patients ont donné leur consentement écrit.

### **2- Recueil des données**

Nous avons recueillis pour chaque patient :

- L'identité du patient, l'âge et le sexe de ce dernier
- Les données cliniques : La date et le début des symptômes Le type de symptômes : fièvre, toux sèche, rhinorrhée, douleurs à la poitrine, dyspnée, myalgies, fatigue, anosmie, agueusie, odynophagie, diarrhée, conjonctivite, céphalées.

### **3- RT-PCR et Tests antigéniques**

#### **a. Réalisation et acheminement des prélèvements**

Un écouvillonnage nasopharyngé a été réalisé par le personnel formé au niveau du service des maladies infectieuses. Les prélèvements ont été acheminés et traités directement au laboratoire sans délai, par RT-PCR et par les 3 tests antigéniques parallèlement.

#### **b. La RT-PCR au laboratoire**

L'extraction de l'ARN viral a été réalisée par une technique automatisée par le kit Nucleic Acid Extraction Kit (Bioer). L'amplification a été faite en utilisant le kit Real Amp GeneFinder™ COVID-19 PLUS qui cible le gène RdRp de l'ARN polymérase ARN dépendante, le gène N de la nucléocapside et le gène E de l'enveloppe. L'amplification a été performée sur le thermocycleur QuantStudio5 (Applied Biosystem).

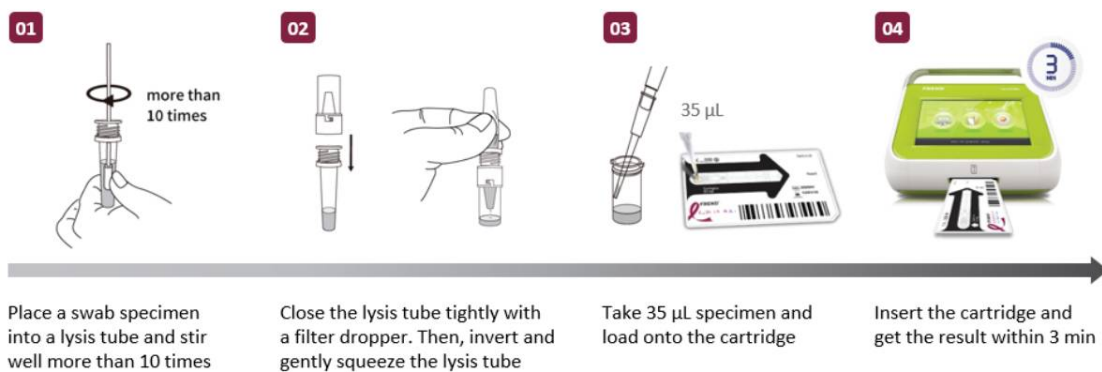
#### **c. Les tests antigéniques**

Pour les tests rapides antigéniques, ils ont été réalisés selon les recommandations du fournisseur. Les tests sont unitaires et la durée des tests est de 15 min. ( figure 15)

- Le test FRENDO® Ag COVID-19 (NanoEntek) utilise une technique chimiluminescence et nécessite pour l'interprétation des résultats un lecteur fluorimètre.
- Le STANDARD Q COVID-19 Ag (SD Biosensor) et le PANBIO™ COVID-19 Ag RAPID TEST DEVICE (Abbott) utilisent une technique immunochromatographique et la lecture est visuelle . (figure 16 )



**Figure 15:** Les différents tests antigéniques utilisés dans notre étude.



**Figure 16:** Étapes de réalisation du test FA : FrenD Ag COVID-19 Nanoentek (79)

#### 4- Analyse statistique

Les données virologiques recueillis ont été analysées par le logiciel Excel. Le gold standard dans cette évaluation est la RT-PCR. Les critères utilisés pour définir la performance des tests antigéniques sont : la sensibilité, la spécificité ainsi que la valeur prédictive positive et négative (prévalence de la maladie au cours de la période d'étude estimée à 5%).

La sensibilité est déterminée sur une population de patients dont le statut « malade » est connu grâce au test de référence, ici la RT-PCR. C'est la probabilité du résultat positif du test chez les sujets porteurs de la maladie telle qu'elle est définie par le gold standard soit le taux de vrais positifs. La spécificité est déterminée sur une population de patients dont le statut « non malade » est connu. C'est la probabilité du résultat négatif de test chez les patients définis comme non malades soit le taux de vrais négatifs. La Sensibilité et la spécificité sont des propriétés du test fixées pour une maladie donnée et indépendantes de sa prévalence.

La valeur prédictive positive (VPP) est la probabilité que le patient, dont le test est positif, soit effectivement malade. La valeur prédictive négative (VPN) est la probabilité que le patient, dont le test est négatif, ne soit pas malade. Le Cohen's kappa coefficient ( $\kappa$ ) a été utilisé pour évaluer le degré d'accord (ou de concordance) des deux méthodes de diagnostic.

Ce coefficient varie de 0 à 1. La plateforme SPSS® Statistics 27.0 a été utilisé pour l'analyse de données.

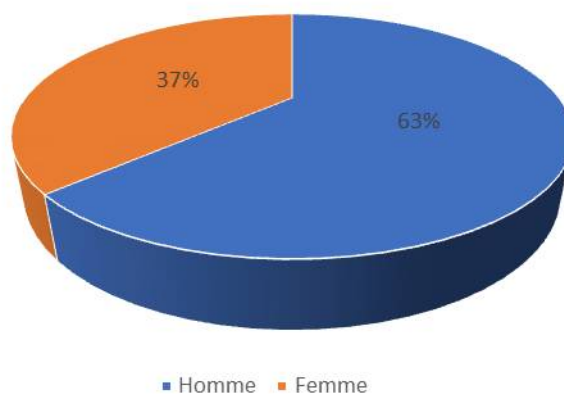
Test antigéniques	Groupe S1 (symptômes inférieurs à 5 jours)		Groupe S2 (symptômes supérieurs à 5 jours)		Groupe S3 (patients asymptomatiques)	
	RT-PCR +	RT-PCR -	RT-PCR +	RT-PCR -	RT-PCR +	RT-PCR -
PA test +	72	0	49	0	1	0
PA test -	0	8	14	17	0	0



## B- Résultats

### 1- Données épidémiologiques

La distribution selon l'âge des cas d'infection au SARS-CoV-2 au cours de notre étude s'étend de 0-72 ans avec un âge médian de 47,5 ans. Dans notre étude, les patients atteints du COVID-19 étaient en majorité des hommes avec un sex-ratio F/H de 0,6 : 151 hommes pour 89 femmes.



**Figure 17:** Répartition des cas selon le sexe

### 2- Données du diagnostic virologique

#### i. Taux de positivité de la RT-PCR

Selon les résultats de la RT-PCR, 72 échantillons étaient positifs dans le groupe S1 et 51 dans le groupe S2. Soit un taux de positivité de 90 et de 63,75 %.

Dans le groupe S3, une des RT-PCR était positive (tableau 7) soit un taux de 1,25% .

## ii. Taux de positivité des tests antigéniques

Les tests rapides antigéniques étaient négatifs pour tous les participants du groupe S3 avec les trois kits.

Ils présentaient un taux de positivité pour le PA de 72%, pour le SA de 88,75% et pour le FA de 70% dans le groupe S1.

Quant au groupe S2 , une positivité pour le PA de 63,75%, pour le SA de 61,25% et enfin pour le FA de 38,75%.

Enfin , pour le groupe S3 , une positivité pour le PA de 1,25 % et de 0 pour les autres tests antigéniques.

**Tableau 8** : Comparaison entre les tests antigéniques rapides et la RT-PCR pour les groupes S1, S2 et S3.

Tests antigéniques	Groupe S1 (symptômes inférieurs à 5 jours)		Groupe S2 (symptômes supérieurs à 5 jours)		Groupe S3 ( patients asymptomatiques)	
	RT-PCR +	RT-PCR -	RT-PCR +	RT-PCR -	RT-PCR +	RT-PCR -
PA test +	72	0	51	0	1	0
PA test -	0	8	12	17	0	0

Tests antigéniques	Groupe S1 (symptômes inférieurs à 5 jours)		Groupe S2 (symptômes supérieurs à 5 jours)		Groupe S3 ( patients asymptomatiques)	
	RT-PCR +	RT-PCR -	RT-PCR +	RT-PCR -	RT-PCR +	RT-PCR -
SA test +	71	0	49	0	0	0
SA test -	1	8	14	17	0	0

Tests antigéniques	Groupe S1 (symptômes inférieurs à 5 jours)		Groupe S2 (symptômes supérieurs à 5 jours)		Groupe S3 ( patients asymptomatiques)	
	RT-PCR +	RT-PCR -	RT-PCR +	RT-PCR -	RT-PCR +	RT-PCR -
FA test +	56	0	31	0	0	0
FA test -	16	8	32	17	0	0

### 3- Analyse statistiques des données

Dans le groupe S1, la sensibilité du PA est de 100 %, celle du SA est de 98 % et enfin, celle du FA COVID-19 est de 77 %. Respectivement, la valeur prédictive négative est de 100 % pour le PA, 89 % pour le SA et enfin 33 % pour le FA.

Dans le groupe S2, la sensibilité du PA est de 81 %, celle du SA est de 78 % et enfin, celle du FA COVID-19 est de 49 %. Dans ce groupe, la valeur prédictive négative est de 58 % pour le PA, 54% pour le SA et enfin 34 % pour le FA.

Enfin , la spécificité et la valeur prédictive positive est aux alentours de 100 % pour les 3 kits.

L'indice  $\kappa$  dans le groupe S1 entre la PA/SA et la PCR et aux alentours de 1, celle entre la FA et la PCR est aux alentours de 0,7 ce qui indique un degré d'accord acceptable.

Ce même indice dans le groupe S2 entre PA/SA et la PCR est aux alentours de 0,6, et entre le FA et la PCR est de 0,29 ce qui indique un accord passable (Tableau 8).

**Tableau 9:** Résumé des principales données statistiques

Test antigéniques	Sensibilité			VPN		
	S1	S2	Sensibilité moyenne	S1	S2	VPN moyenne
PA	100%	81%	90,5%	100%	58%	79%
SA	98 %	78%	88%	89%	54%	71,5%
FA	77 %	49%	63%	33%	34%	33,5%

## C- Discussion

Les tests antigéniques ciblent la protéine de la nucléocapside NP : Le test FA utilise une technique chimiluminescence et nécessite pour l'interprétation des résultats un lecteur fluorimètre quand aux SA ET PA ils utilisent une technique immunochromatographique et la lecture est visuelle . (figure 16 )

Il y a une barre du contrôle et celle du témoin . La présence des deux signe la positivité du test.

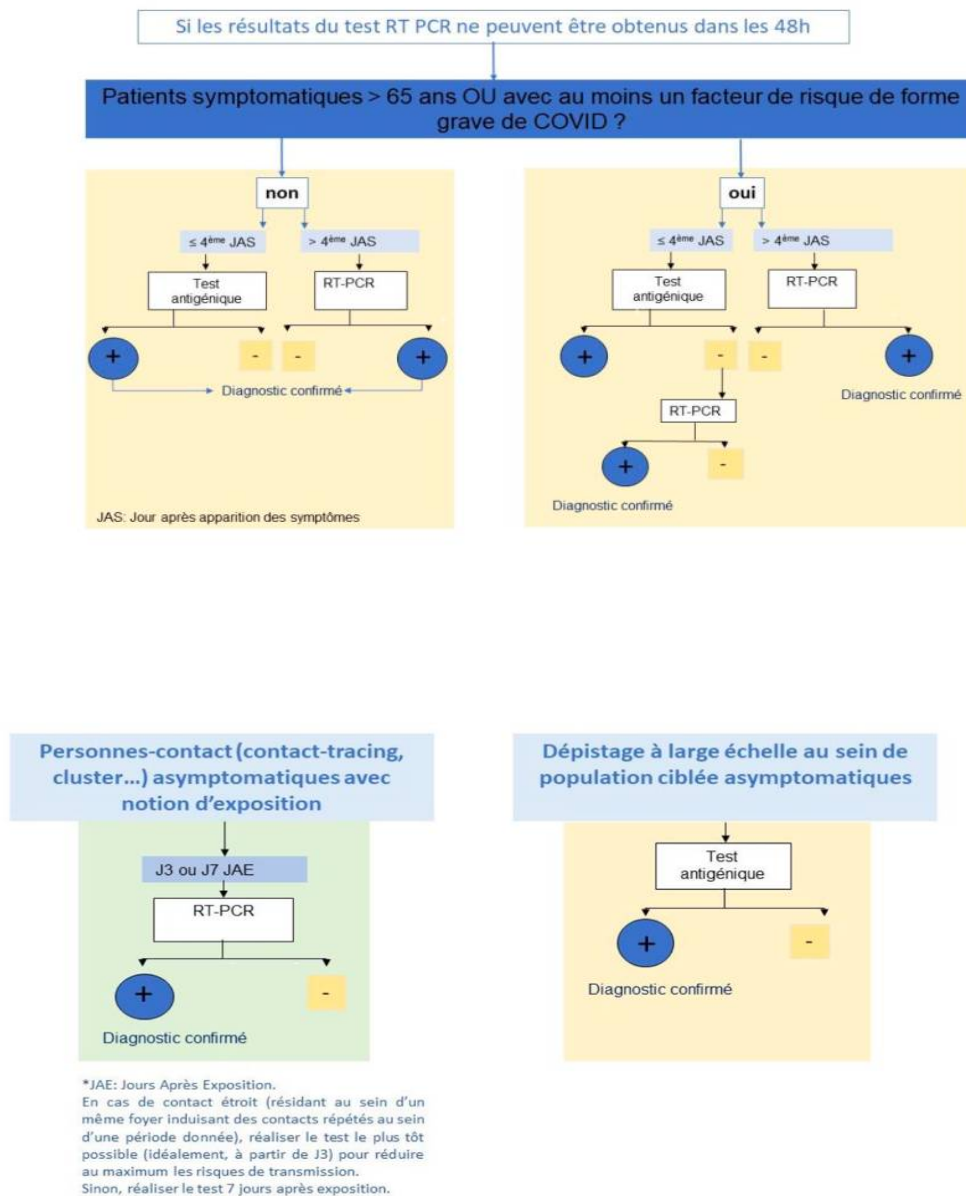
Il faut garder à l'esprit, qu'un seul test négatif n'exclut pas une infection par le SARS-CoV-2.

Il doit être interprétés en fonction du délai d'apparition des symptômes et du contexte clinico épidémiologique.

Selon l'OMS, les tests antigéniques peuvent être utilisés pour diagnostiquer une infection à SARS-CoV-2 quand les tests de biologie moléculaire ne sont pas disponibles ou si l'intérêt du dépistage serait compromis par des délais trop longs d'obtention des résultats. Les tests antigéniques ne sont pas recommandés chez les cas asymptomatiques cependant ils peuvent être utilisés à visée de dépistage dans des populations à risque : ils permettent d'identifier rapidement les personnes infectés et d'informer les populations mais également d'agir en prévenant et contrôlant le risque et ce par des mesures préventives et ce par un contrôle régulier, 3 fois par semaine (61).

La HAS recommande d'intégrer les tests antigéniques (sur prélèvement nasopharyngé) sous forme de test unitaire rapide dans la stratégie de prise en charge diagnostique des patients symptomatiques dans les sept jours après apparition des symptômes et un rendu de résultat le jour même de la réalisation du prélèvement et du test. Ce qui permettrait d'avoir un impact en santé publique intéressant en améliorant la précocité du contact-tracing qui en découle c'est-à-dire détecter et briser les chaînes de transmission le plus rapidement possible.

La HAS recommande également l'usage des tests de diagnostic rapide pour les patients aux urgences hospitalières si le résultat rapide est attendu (même si la RT-PCR reste la méthode de référence). La figure 19 décrit l'algorithme diagnostique de la COVID-19 chez les patients en ambulatoire.



**Figure 18:** Conduite à tenir face aux patients en ambulatoire (85)

Notre étude indique que les tests antigéniques PA et SA ont une très bonne sensibilité.

Ils permettent d'identifier les patients infectés par la COVID-19 et ce particulièrement entre J0 et J5 de la maladie. Dans une étude récente, la sensibilité a été corrélée avec le stade de l'infection et du diagnostic : en effet, la sensibilité atteint 75 à 93 % au début de l'infection, elle concernait les patients présymptomatiques ou avec des symptômes précoces. Cependant, pour les patients asymptomatiques ou en fin de maladie, la sensibilité est faible de l'ordre de 26 % (57).

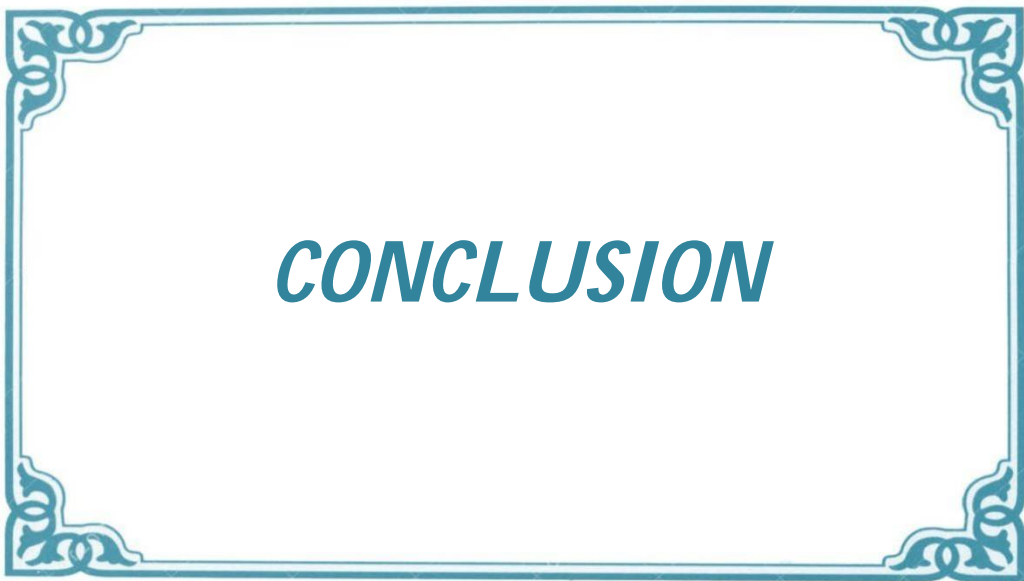
Ce qui concorde avec d'autres études concernant le test PA qui présente une sensibilité entre 77,2% et 95,8 % pour les patients avec des symptômes de moins de une semaine (58, 59). Une étude en Italie, toujours sur le PA, réalisée sur une population de 4167 patients a mis en évidence une sensibilité de 66,82% et une spécificité de 99,89%, une valeur prédictive positive de 97,87% et une valeur prédictive négative de 97,62%. Ces valeurs doivent être interprétées avec précaution dans les zones de faible prévalence et chez les populations à faible charge virale (77). En effet, les tests antigéniques ne sont pas recommandés comme outils de surveillance dans des conditions de faible circulation du virus. Dans ce cas-là, le test par RT-PCR reste le test de référence (57).

Par ailleurs, le SA a été étudié auprès de plus de 529 participants, avec 170 patients positifs au test antigénique pour 191 patients positifs à la RT-PCR ce qui correspond à une sensibilité de l'ordre de 89 % (60). Il y a cependant un faux positif obtenu dans les 338 RT-PCR négatif ce qui aboutit à une spécificité de l'ordre de 99,7%. Une étude menée en Serbie comparant le BA et la RT-PCR sur une population de 120 patients symptomatique a obtenu une sensibilité de l'ordre de 66,7 % durant les cinq premiers jours de symptômes et une valeur de  $\kappa$  de l'ordre de 0,85 et 0,92 (75). Ces chiffres avoisinent nos résultats.

Dans notre étude, les résultats obtenus pour le test antigénique FA prouvent une performance clinique médiocre. Une autre étude en Italie, réalisée sur 110 prélèvements, a comparé le FA à la RT-PCR mais aussi à un autre test antigénique dont la révélation se fait également par fluorimétrie. Pour les Ct du gène N au-delà de 31, la sensibilité est de 40 %. Cependant, dans le cas de symptômes cliniques inférieurs à 7 jours la sensibilité est de 95,6 % et de 86,7 % au-delà de 7 jours (78).

D'après l'OMS, les tests antigéniques du SARS-CoV-2 avec une sensibilité  $\geq 80$  % et une spécificité  $\geq 97$  % par rapport au test RT-PCR de référence. La HAS a retenu les mêmes valeurs que celles de l'OMS concernant la sensibilité et la spécificité. La VPN des tests antigéniques est excellente cependant cela ne s'applique pas dans les zones à faible prévalence. Ainsi, il est préférable de toujours confirmer un résultat négatif par une observation clinique, l'historique du patient et les informations épidémiologiques. Les tests rapides antigéniques présentent un taux considérable de faux négatifs. Ainsi, leur usage doit être fait avec précaution. Pour le CDC, un test antigénique négatif pour un patient symptomatique se doit d'être toujours contrôlé par une RT-PCR (61). Cependant, pour les patients asymptomatiques ce n'est pas nécessaire.

Notre étude présente certaines limites : la taille de l'échantillon et la durée de l'essai.



***CONCLUSION***



L'année 2019 a été marquée par la découverte d'une nouvelle maladie : La COVID-19 dont l'agent responsable est le virus 2019 n-CoV. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, le test de référence est la RT-PCR mais compte tenu de la complexité de la mise en œuvre de cette technique dans certains pays, son coût, l'équipement et le personnel qualifié qu'elle requiert, il est important de proposer des alternatives fiables. La crise sanitaire n'a fait que confirmer le besoin crucial et urgent d'alternatives de diagnostic rapide hautement sensibles et spécifiques et faciles d'accès pour les populations. Malgré leur faible sensibilité par rapport à la biologie moléculaire, les tests antigéniques présentent une bonne alternative lorsqu'ils sont utilisés correctement : ils ne nécessitent pas d'expertise particulière et sont faciles d'utilisation. Notre étude a souligné l'importance de l'usage des tests rapides antigéniques à un moment clé de l'évolution de la maladie. En effet, à un stade précoce, dans les cinq jours du début des symptômes, ils donnent des résultats rapides (en 15 minutes), fiables et permettent de réduire assez significativement la circulation virale. Néanmoins, une évaluation interne de ces kits avant leur utilisation est fortement recommandée.



## RESUME

**Titre:** EVALUATION DE TROIS TESTS RAPIDES ANTIGÉNIQUES DANS LE DIAGNOSTIC DU SARS-COV-2

**Auteur:** Rim EL BACHA

**Mots-clés:** RT-PCR, COVID-19, TDR.

**Introduction :** La RT-PCR a été désignée comme le test de référence pour le diagnostic de la COVID-19. Les autres alternatives diagnostiques sont les tests de diagnostic rapide antigéniques (TDR). Nous avons mené une évaluation des performances de trois tests: FREND<sup>®</sup> (FA), STANDARD Q (SA), PANBIO<sup>™</sup>(PA) par rapport aux résultats de RT-PCR.

**Matériel et méthodes :** Il s'agit d'une étude d'une cohorte de 240 patients, en trois groupes de 80 patients selon le délai d'apparition des symptômes : le groupe S1, entre J0 et J5 de symptomatologie, pour le S2 au-delà de J5 de symptomatologie et le S3 asymptomatique. Tous les prélèvements ont été traités par PCR en temps réel et les 3 TDR.

**Résultats :** Dans le groupe S1, la sensibilité du PA est de 100 %, celle du SA est de 98%, celle du FA COVID-19 est de 77%. La Valeur prédictive négative est de 100% pour le PA, 89% pour le SA et 33% pour le FA. Dans le groupe S2, la sensibilité du PA est de 81%, celle du SA est de 78 % et, celle du FA COVID-19 est de 49%. La valeur prédictive négative est de 58 % pour le PA, 54% pour le SA et enfin 34 % pour le FA. La spécificité et la valeur prédictive positive est aux alentours de 100% pour les 3 kits.

**Discussion et conclusion:** La recommandation de l'OMS concernant les tests antigéniques est d'atteindre un minimum de performance de 80% de sensibilité et de 97% de spécificité. Notre étude a confirmé la bonne sensibilité et spécificité des tests antigéniques PA et SA. La performance est maximale durant les 5 premiers jours de symptomatologie.

## SUMMARY

**Title :** EVALUATION OF THREE RAPID ANTIGENIC TESTS IN THE DIAGNOSIS OF SARS-COV-2

**Author :** Rim EL BACHA

**Key words :** RT-PCR, Ag-RDTs, COVID-19

**Introduction :** The **R**everse **T**ranscription **P**olymerase **C**hain **R**eaction (RT-PCR) has been designated as the reference test for the diagnosis of COVID-19. RT-PCR. Other alternative diagnoses such as **Antigen Rapid Diagnostic Tests** which enables.

Our study aims at evaluating the performance (vs RT-PCR) of the three following Ag-RDTs:

PANBIO™ (PA), STANDARD Q (SA), FRENDO™ Ag (FA)

**Experimental section:** This is a study of a cohort of 240 patients, evenly split in 3 groups of 80. The classification criterion is based on how early the symptoms appear. The first group (S1) corresponds to between 0 and 5 days of symptomatology whereas the S2 refers to beyond 5 days of symptomatology, the S3 is asymptomatic.

All samplings were treated by PCR in real time and the 3 aforementioned Ag-RDTs.

**Results:** In the S1 group, the sensitivities of PA, SA and FA were 100%, 98% and 77% respectively. The negative p-values of PA, SA and FA were 100%, 89% and 33% respectively. In S2 group, the sensitivities of PA, SA and FA were 81%, 78% and 49% respectively. The negative p-values of PA, SA and FA were 58%, 54% and 34% respectively.

Finally, both the specificity and the positive p-value are approximately 100% for the 3 kits.

**Discussion and conclusion:** As far as antigen tests are concerned, the **World Health Organization (WHO)** recommends a minimum of 80% sensitivity and 97% specificity in comparison with RT-PCR. Our study has confirmed the outstanding sensitivity and specificity of both PA and SA antigen tests and highlighted the relationship between test performance and screening date. Indeed, the test performance is maximum during the first 5 days of symptomatology.

## ملخص

العنوان: تقييم ثلاثة اختبارات سريعة للمسببات في تشخيص السارس -2-COV

من طرف: ريم الباشا

الكلمات الأساسية: COVID-19 - RT-PCR - TDR

### مقدمة:

تميز عام 2019 باكتشاف مرض كوفيد"

كما تم تعيين فحص RT-PCR كاختبار مرجعي لتشخيص هذا المرض المعدي. على أن هذا الفحص يتطلب معدات خصوصية وكذا موظفين مؤهلين لهذه المهمة.

كما ظهرت نتيجة لذلك، بدائل تشخيصية أخرى. من بينها، اختبارات التشخيص السريع للمضادات الجينية (TDR) الذي يسمح بتشخيص الحالات

اقترحنا إجراء تقييم أداء ثلاثة اختبارات سريعة للمضادات الجينية الآتية مقابل نتائج (RT-PCR)

### المواد والأساليب:

هذه دراسة استباقية أحادية المركز تخص مجموعة من 240 مريضا، و هي مقسمة إلى ثلاث مجموعات -المجموعة الأولى س 1 : حين تتم ظهور الأعراض بين اليوم 0 و اليوم 5 ، المجموعة الثانية س 2 : حين تتم ظهور الأعراض بعد اليوم 5 وأخيراً مجموعة س 3 والتي لا تحمل أي أعراض.

### النتائج:

في المجموعة س1 ، تكون حساسية الفحص PA 100% ، و 98% بالنسبة ل SA وأخيراً ، تبلغ FA COVID-19 ٪.

كما تبلغ القيمة التنبؤية السلبية 100% بالنسبة ل PA و 89 ٪ ل SA وأخيراً 33٪ ل FA.

في المجموعة س2 ، تبلغ حساسية PA 81 % ، و SA 78 ٪ وأخيراً نسبة FA COVID-19 هي 49 ٪.

تبلغ قيمة النسبة التنبؤية السلبية 85 ٪ بالنسبة ل PA و 54 ٪ ل SA و 34٪ بالنسبة FA.

أخيراً ، تبلغ الخصوصية والقيمة

التنبؤية الإيجابية 100٪ للمجموعات الثلاث

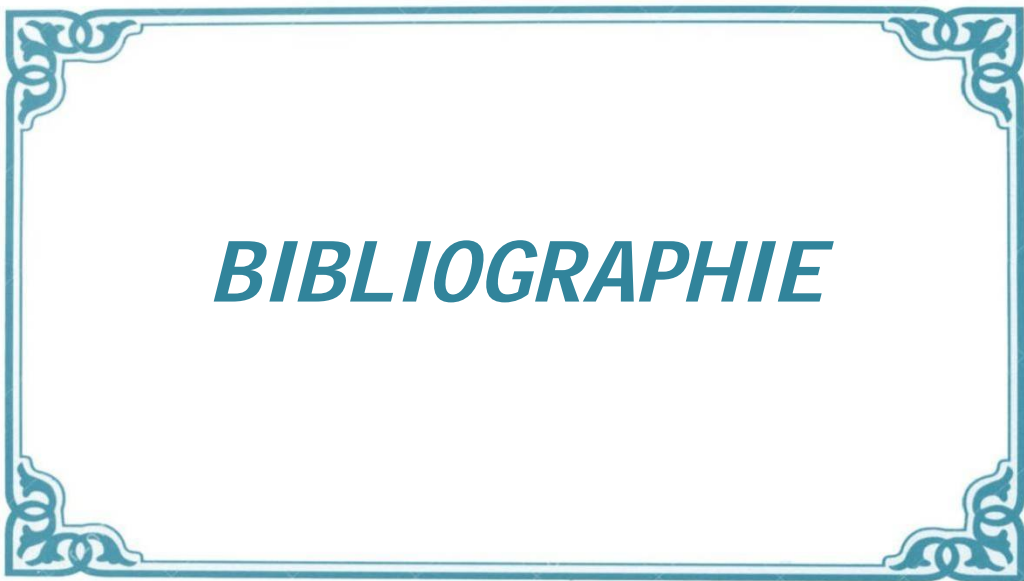
### المناقشة والاستنتاج:

إن توصية منظمة الصحة العالمية بشأن اختبار المضاد الجيني هي لتحقيق أداء لا يقل عن 80٪ حساسية و 97٪ خصوصية في مقارنة بـ RT-PCR

إن دراستنا أكدت أن حساسية ونوعية الاختبارات للمضادات الجينية PA و SA هي ذات نتائج جيدة.

كما سلط الضوء على العلاقة بين أداء الاختبار و تاريخ العرض المخبري حيث ، يكون الأداء في

أقصى حد له خلال الأيام الخمسة الأولى من أعراض كوفيد 19



***BIBLIOGRAPHIE***

1. Lu H, Stratton CW, Tang YW. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. *J Med Virol.* 2020;92(4):401–2.
2. Ajilore K, Atakiti I, Onyenankeya K. College students’ knowledge, attitudes and adherence to public service announcements on Ebola in Nigeria: Suggestions for improving future Ebola prevention education programmes. *Health Educ J* [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2021 May 15];76(6):648–60. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0017896917710969>
3. Communiqués [Internet]. [cited 2021 Feb 23]. Available from: <https://www.sante.gov.ma/Pages/communiqués.aspx?communiqueID=355>
4. GISAIID - Initiative [Internet]. [cited 2021 Jun 9]. Available from: <https://www.gisaid.org/>
5. Vabret A, Dina J, Brison E, Brouard J, Freymuth F. Coronavirus humains (HCoV). *Pathol Biol.* 2009;57(2):149–60.
6. Liu DX, Liang JQ, Fung TS. Human Coronavirus-229E, -OC43, -NL63, and -HKU1 (Coronaviridae). *Encycl Virol.* 2021;(January):428–40.
7. Park M, Thwaites RS, Openshaw PJM. COVID-19: Lessons from SARS and MERS. *Eur J Immunol.* 2020;50(3):308–11.
8. World Health Organization. Mers Situation Update May 2021 [Internet]. 2021. Available from: <http://www.emro.who.int/health-topics/mers-cov/mers- outbreaks.html>

9. Ramanathan K, Antognini D, Combes A, Paden M, Zakhary B, Ogino M, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;2020(January):19–21.
10. Sardon J-P. De la longue histoire des épidémies au Covid-19. *Les Anal Popul Avenir*. 2020;N° 26(8):1.
11. Royaume du Maroc-Ministère de la Santé. COVID-19 et infection au SARS-CoV-2 Bulletin épidémiologique numéro 9 du 06/08/2020.
12. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses – a statement of the Coronavirus Study Group. *bioRxiv*. 2020;
13. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2021;19(3):141–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
14. Société Française de Microbiologie. ( SFM ) Chapitre 38 Available from: [https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/04/CHAPITRE38\\_CORONAVIRUS\\_TVM2019.pdf](https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/04/CHAPITRE38_CORONAVIRUS_TVM2019.pdf)
15. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* [Internet]. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
16. Siddell S, Wege H, ter Meulen V. The structure and replication of coronaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1982;99:131–63.



17. Khailany RA, Safdar M, Ozaslan M. Genomic characterization of a novel SARS- CoV-2 Rozhgar. *Gene Reports*. 2020;19(January):1–6.
18. Yang D, Leibowitz JL. The structure and functions of coronavirus genomic 3' and 5' ends. *Virus Res*. 2015;206(February):120–33.
19. Ellis P, Somogyvári F, Virok DP, Nosedá M, Mclean GR. Decoding Covid-19 with the SARS-CoV-2 Genome. *Bioinformatics*. 2021;1–12.
20. Fontanet A, Autran B, Lina B, Kieny MP, Karim SSA, Sridhar D. SARS-CoV-2 variants and ending the COVID-19 pandemic [Internet]. Vol. 397, *The Lancet*. Elsevier B.V.; 2021 [cited 2021 May 9]. p. 952–4. Available from: <https://doi.org/10.1126/science.abg8101>.
21. Meirson T, Bomze D, Markel G. Structural basis of SARS-CoV-2 spike protein induced by ACE2. *Bioinformatics*. 2021;37(7):929–36.
22. Mahmoud M et al. Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *OptionBio*. 2020;619–620(Juillet-Août).
23. Hachim A, Kavian N, Cohen CA, Chin AWH, Chu DKW, Mok CKP, et al. ORF8 and ORF3b antibodies are accurate serological markers of early and late SARS- CoV-2 infection. *Nat Immunol* [Internet]. 2020;21(10):1293–301. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41590-020-0773-7>
24. Dong L, Tian J, He S, Zhu C, Wang J, Liu C, et al. Possible Vertical Transmission of SARS-CoV-2 from an Infected Mother to Her Newborn [Internet]. Vol. 323, *JAMA - Journal of the American Medical Association*. American Medical Association; 2020 [cited 2021 May 9]. p. 1846–8. Available from: [/pmc/articles/PMC7099527/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34220438/)

25. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Apr 16 [cited 2021 May 9];382(16):1564–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32182409/>
26. Petti S. Stability and Viability of SARS-CoV-2. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 May 14 [cited 2021 May 9];382(20):1964–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32283579>
27. Ramanathan K, Antognini D, Combes A, Paden M, Zakhary B, Ogino M, et al. Transmission of SARS and MERS coronaviruses and influenza virus in healthcare settings: the possible role of dry surface contamination. *J Hosp Infect.* 2020;92(January):235–50.
28. Dowell SF, Simmerman JM, Erdman DD, Wu JSJ, Chaovavanich A, Javadi M, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus on hospital surfaces. *Clin Infect Dis.* 2004;39(5):652–7.
29. Morawska L, Johnson GR, Ristovski ZD, Hargreaves M, Mengersen K, Corbett S, et al. Size distribution and sites of origin of droplets expelled from the human respiratory tract during expiratory activities. *J Aerosol Sci.* 2009;40(3):256–69.
30. Aydogdu MO, Altun E, Chung E, Ren G, Homer-Vanniasinkam S, Chen B, et al. Surface interactions and viability of coronaviruses: Surface interactions and viability of coronaviruses. *J R Soc Interface.* 2021;18(174).
31. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes among 5700 Patients Hospitalized with COVID-19 in the New York City Area. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2020;323(20):2052–9.

32. Niedzwiedz CL, O'Donnell CA, Jani BD, Demou E, Ho FK, Celis-Morales C, et al. Ethnic and socioeconomic differences in SARS-CoV-2 infection: Prospective cohort study using UK Biobank. *BMC Med.* 2020;18(1):1–14.
33. Singh R, Kang A, Luo X, Jeyanathan M, Gillgrass A, Afkhami S, et al. COVID-19: Current knowledge in clinical features, immunological responses, and vaccine development. *FASEB J.* 2021;35(3):1–23.
34. Liu PP, Blet A, Smyth D, Li H. The Science Underlying COVID-19: Implications for the Cardiovascular System. *Circ AHA.* 2020;142:68–78.
35. Richier Q, Bonny V, Maillard A, Mousseaux C, Plaçais L. COVID-19 : physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. *La Rev Médecine Interne.* 2020;41:375–89.
36. Remy KE, Brakenridge SC, Francois B, Daix T, Deutschman CS, Monneret G, et al. Immunotherapies for COVID-19: lessons learned from sepsis [Internet]. Vol. 8, *The Lancet Respiratory Medicine*. Lancet Publishing Group; 2020 [cited 2021 May 29]. p. 946–9. Available from: </pmc/articles/PMC7195015/>
37. Bonny V, Maillard A, Mousseaux C, Plaç Ais D, L, Richier Q. ScienceDirect COVID-19 : physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages COVID-19: Pathogenesis of a multi-faceted disease. *La Rev médecine interne* [Internet]. 2020;41:375–89. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2020.05.003>
38. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382(18):1708–20.

39. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497–506.
40. Organisation Mondiale de la Santé. Orientations sur la sécurité biologique en laboratoire en rapport avec la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) [Internet]. 2020 May [cited 2021 Jun 9]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332260/WHO-WPE-GIH-2020.3- fre.pdf>
41. Parasher A. COVID-19: Current understanding of its. [cited 2021 May 12]; Available from: <http://pmj.bmj.com/>
42. NEJM Procedure Collection of Nasopharyngeal Specimens with the Swab Technique - YouTube [Internet]. [cited 2021 May 13]. Available from: <https://www.youtube.com/watch?v=mwVTuGiw2GI>
43. Winichakoon P, Chaiwarith R, Liwsrisakun C, Salee P, Goonna A, Limsukon A, et al. Negative Nasopharyngeal and Oropharyngeal Swabs Do Not Rule Out COVID- 19. 2020; Available from: <https://doi.org/10.1128/JCM>
44. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* [Internet]. 2020 [cited 2021 May 13];581:465. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41586- 020-2196-x>
45. (No Title) [Internet]. [cited 2021 May 13]. Available from: [https://www.revuebibiologique.fr/images/ok-RBM359\\_VIROLOGIE-TESTCOVID.pdf](https://www.revuebibiologique.fr/images/ok-RBM359_VIROLOGIE-TESTCOVID.pdf)

46. Hanel R, Thurner S. Boosting test-efficiency by pooled testing for SARS-CoV-2— Formula for optimal pool size. *PLoS One* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2021 Jun 8];15(11 November). Available from: [/pmc/articles/PMC7641378/](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241378)
47. Wunsch H. Mechanical ventilation in COVID-19: Interpreting the current epidemiology. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;202(1):1–4.
48. Haute Autorité de Santé - Revue rapide sur les tests RT-LAMP sur prélèvement salivaire (hors système intégré de type EasyCoV) [Internet]. [cited 2021 May 13]. Available from: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3222440/fr/revue-rapide-sur-les-tests-rt-lamp-sur-prelevement-salivaire-hors-systeme-integre-de-type-easycov](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3222440/fr/revue-rapide-sur-les-tests-rt-lamp-sur-prelevement-salivaire-hors-systeme-integre-de-type-easycov)
49. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, Uhl S, Hoagland D, Møller R, et al. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell* [Internet]. 2020 May 28 [cited 2021 May 29];181(5):1036-1045.e9. Available from: [/pmc/articles/PMC7227586/](https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.088)
50. Zheng M, Gao Y, Wang G, Song G, Liu S, Sun D, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients [Internet]. Vol. 17, *Cellular and Molecular Immunology*. Springer Nature; 2020 [cited 2021 May 13]. p. 533–5. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0402-2>
51. Harcourt J, Tamin A, Lu X, Kamili S, Sakthivel SK, Murray J, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 from patient with coronavirus disease, United States. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2020 Jun 1 [cited 2021 May 13];26(6):1266–73. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32160149/>

52. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2 [Internet]. Vol. 323, JAMA - Journal of the American Medical Association. American Medical Association; 2020 [cited 2021 May 14]. p. 2249–51. Available from: <https://jamanetwork.com/>
53. Alkhairy OK, Memish ZA, Hajeer AH. Serologic aspects of COVID-19: Recommendations for use in the clinical setting [Internet]. Vol. 41, Travel Medicine and Infectious Disease. Elsevier Inc.; 2021 [cited 2021 May 16]. p. 102046. Available from: </pmc/articles/PMC8010359/>
54. Haute Autorité de Santé. ÉVALUER LES TECHNOLOGIES DE SANTÉ Place des tests sérologiques dans la stratégie et la prise en charge de la maladie COVID-19 [Internet]. [cited 2021 May 14]. Available from: [www.has-sante.fr](http://www.has-sante.fr)
55. OMS/UNICEF. Prise en charge clinique de la COVID-19. 2020.
56. Ministère de la Santé du Maroc. Mise à jour du protocole de prise en charge des cas Covid 19.pdf. MAROC;
57. Toverud Landaas E, Larsdatter Storm M , Christophersen Tollånes M, Barlinn R, Bakken Kran AM, Bragstad K, Christensen A, Andreassen T. Diagnostic performance of a SARS-CoV-2 rapid antigen test in a large, Norwegian cohort J Clin Virol. 2021 Apr; 137: 104789.
58. Lambert-Niclot S, Cuffel A, Le Pape S, Vauloup-Fellous C, Morand-Joubert L, RoqueAfonso A-M, Le Goff J, Delaugerre C, on behalf of the AP-HP/Universities/INSERM COVID-19 Research Collaboration. 2020. Evaluation of a rapid diagnostic assay for detection of SARSCoV-2 antigen in nasopharyngeal swabs. J Clin Microbiol 58:e00977-20.

- 59.** Fenollar F, Bouam A, Ballouche M, Fuster L, Prudent E, Colson P, Tissot-Dupont H, Million M, Drancourt M, Raoult D, Fournier P-E. 2021. Evaluation of the Panbio COVID-19 rapid antigen detection test device for the screening of patients with COVID-19. *J Clin Microbiol* 59:e02589-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.02589-20>.
- 60.** Berger A, Nsoga MTN, Perez-Rodriguez FJ, Aad YA, Sattoune-Roche P, Gayet-Ageron A, et al. (2021) Diagnostic accuracy of two commercial SARS-CoV-2 antigen-detecting rapid tests at the point of care in community-based testing centers. *PLoS ONE* 16(3): e0248921.
- 61.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antigen-tests-guidelines.html> (Updated Dec. 16, 2020).
- 62.** Bruinen de Bruin Y, Lequarre A\_S, McCourt J, Clevestig P, Pigazzani F, Zare Jeddi M, et al. Initial impacts of global risk mitigation measures taken during the combatting of the COVID-19 pandemic. *Safety Science* . août 2020 Disponible sur : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii.S0925753520301703>.
- 63.** Singh, SP, Pritam, M, Pandey, B, Yadav, TP. Microstructure, pathophysiology, and potential therapeutics of COVID-19: A comprehensive review. *J Med Virol*. 2021; 93: 275– 299. <https://doi.org/10.1002/jmv.26254>
- 64.** Helmy YA, Fawzy M, Elaswad A, Sobieh A, Kenney SP, Shehata AA . The COVID-19 Pandemic : A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. *J Clin Med* . 24 avr 2020; 9(4): E1225.

65. SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions . Disponible sur : [https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html#anchor\\_1632158775384](https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html#anchor_1632158775384)
66. Suivi des variants du SARS-CoV-2 . Disponible sur : <https://www.who.int/fr/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>
67. Mohammadi M, Shayestehpour M, Mirzaei H. The impact of spike mutated variants of SARS-CoV2 [Alpha, Beta, Gamma, Delta, and Lambda] on the efficacy of subunit recombinant vaccines . Braz J Infect Dis . 1 juill 2021 . Disponible sur : <https://www.bjid.org.br/en-the-impact-spike-mutated-variants-articulo-S1413867021000751>
68. Koopmans M . SARS-CoV-2 and the human-animal interface : outbreaks on mink farms . Lancet Infect Dis.janv 2021; 21(1):18-9
69. Mink-cluster-5-short-report\_AFO2.pdf.
70. Increases Household Transmission of COVID-19 Cases Associates with SARS-Cov\_2 Variant of Concern B.1.617.2 : A national case-control study.
71. Dhand R, Li J. Coughs and Sneezes : Their Role in Transmission of Respiratory Viral Infections, Including SARS-CoV-2. Am J Respir Crit Care Med .1 sept 2020 . Disponible sur : <https://www.atsjournals.org/doi/full.10.1164/rccm.202004-1263PP>
72. Revue rapide de la littérature scientifique : proportion de personnes asymptomatiques, leur réponse immunitaire et leur potentiel de transmission de la COVID-19 . INSPQ . Disponible sur : <https://www.inspq.qc.ca/publications/2989-asymptomatique-transmission-covid19>



73. Signes, symptômes et gravité de la COVID-19 : Guide à l'intention des cliniciens. Disponible sur : <https://www.canada.ca/fr/sante-orientation/signes-symptomes-gravite.html>
74. Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes-Coronavirus humain . 2011. Disponible sur : <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/coronavirus-humain.html>
75. Ristić M, Nikolić N, Čabarkapa V, Turkulov V, Petrović V (2021) Validation of the STANDARD Q COVID-19 antigen test in Vojvodina, Serbia. PLoS ONE 16(2): e0247606. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247606>
76. Pilarowski G, Marquez C, Rubio L, Peng J, Martinez J, Black B, et al. *Clin Infect Dis*. 2020. Dec 26, Field performance and public health response using the BinaxNOW™ Rapid SARS-CoV2 antigen detection assay during community-based testing: clinical infectious diseases; p. ciaa1890. [[Article PMC gratuit](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
77. Treggiari, D, Piubelli, C, Caldrier, S, et al. SARS-CoV-2 rapid antigen test in comparison to RT-PCR targeting different genes: a real-life evaluation among unselected patients in a regional hospital of Italy. *J Med Virol*. 2022; 94: 1190- 1195. [doi:10.1002/jmv.27378](https://doi.org/10.1002/jmv.27378)
78. Orsi A, Pennati BM, Bruzzone B, et al. On-field evaluation of a ultra-rapid fluorescence immunoassay as a frontline test for SARS-CoV-2 diagnostic. *J Virol Methods*. 2021;295:114201. [doi:10.1016/j.jviromet.2021.114201](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2021.114201)

79. Brochure NanoEntek- Covid-19 Antigen – Qualitative test for COVID-19 Ag – Disponible sur le site : [http://nanoentek.com/theme/nanont2\\_en/shop/02/product01\\_view.php?it\\_id=1608092888#detail\\_down](http://nanoentek.com/theme/nanont2_en/shop/02/product01_view.php?it_id=1608092888#detail_down)
80. World Health Organization. Mers Situation Update May 2021 [Internet]. 2021. Available from: <http://www.emro.who.int/health-topics/mers-cov/mers-outbreaks.html>
81. Migliani R, Situation de la pandémie de COVID-19 - N°13 - 8 février 2021 (Partie 2) - Situation dans les régions Méditerranée orientale, Amériques et Afrique de l'OMS Disponible sur : <https://www.mesvaccins.net/web/news/17036-situation-de-la-pandemie-de-covid-19-n-13-8-fevrier-2021-partie-2-situation-dans-les-regions-mediterranee-orientale-ameriques-et-afrique-de-l-oms>
82. Singh R, Kang A, Luo X, Jeyanathan M, Gillgrass A, Afkhami S, et al. COVID-19: Current knowledge in clinical features, immunological responses, and vaccine development. *FASEB J.* 2021;35(3):1–23.
83. Hu Z, Song C, Xu C, Jin G, Chen Y, Xu X, et al. Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID- 19. *Sci China Life Sci.* 2020;63(5):706–11.
84. Update 49 – Immune response to SARS-CoV-2 & viral infections. Disponible sur : <https://www.who.int/publications/m/item/update-49-immune-response-to-sars-cov-2-viral-infections>

85. Revue rapide sur les tests de détection antigénique du virus SARS-Cov-2, octobre 2020, disponible sur [https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-10/synthese\\_tests\\_antigeniques\\_vd.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-10/synthese_tests_antigeniques_vd.pdf)
86. Covid-19 : quelle utilité aujourd’hui pour les tests sérologiques ? COMMUNIQUÉ DE PRESSE - Mis en ligne le 23 juin 2021- [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3273496/fr/covid-19-quelle-utilite-aujourd-hui-pour-les-tests-serologiques#:~:text=La%20HAS%20rappelle%20que%20ces,symptomatiques%20sans%20signe%20de%20gravit%C3%A9](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3273496/fr/covid-19-quelle-utilite-aujourd-hui-pour-les-tests-serologiques#:~:text=La%20HAS%20rappelle%20que%20ces,symptomatiques%20sans%20signe%20de%20gravit%C3%A9)
87. CDC - COVID-19 Vaccination Clinical & Professional Resources- Disponible sur <https://www.cdc.gov/vaccines/covid-19/>