

Royaume du Maroc المملكة المغربية



كلية الطب والصيدلة  
+052110111 +05211111111 +05211111111  
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Année 2021

Thèse N°285/21

**PLACE DE LA SEROLOGIE DANS LE DIAGNOSTIC DE COVID-19,  
(EVALUATION PRELIMINAIRE DU SERVICE DE BIOLOGIE HMMIM)  
(A propos de 137 cas)**

THESE

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 27/10/2021

PAR

Mme. BOUCHALLIKH AMAL

Née le 11/02/ 1994 à ERRACHIDIA

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS :

COVID-19 – SARS-CoV-2 – pandémie – RT-PCR – Sérologie – Anticorps – ELISA – CLIA – Diagnostic

JURY

M. LOUZI LHOUSAIN..... Professeur de Microbiologie	PRESIDENT
M. LAHMADI KHALID..... Professeur d'Immunologie	RAPPORTEUR
M. ER-RAMI MOHAMMED ..... Professeur de Parasitologie	} JUGES
M. SBITI MOHAMMED..... Professeur de Microbiologie	
M. ZINEBI ALI..... Professeur de Médecine interne	

# PLAN

<b>I. INTRODUCTION</b> .....	<b>9</b>
<b>II. PATIENTS ET METHODES</b> .....	<b>12</b>
A.    PATIENTS .....	13
1. Type, lieu et période de l'étude .....	13
2. Critères d'inclusion .....	13
3. Critères de non-inclusion .....	13
B.    METHODES .....	14
1. Recueil des données .....	14
2. Techniques de diagnostic utilisées .....	14
<b>III. RESULTATS :</b> .....	<b>26</b>
A.    Les résultats de test ELISA.....	27
1. Résultats d'évaluation de test ELISA (PLATELIA Sars-Cov-2 total Ab de Biorad) (n=41) .....	27
2. La répétabilité pour les échantillons ELISA .....	29
3. La reproductibilité pour les échantillons ELISA.....	31
4. La spécificité de test ELISA .....	33
5. La sensibilité de test ELISA .....	34
B.    Les résultats de test CLIA .....	35
1. Résultats d'évaluation de test CLIA (Architect Abbott) (n=96): ....	35
2. La répétabilité pour les échantillons CLIA .....	39
3. La reproductibilité pour les échantillons CLIA .....	43
4. La spécificité de test Chimiluminescence .....	47
5. La sensibilité de test Chimiluminescence .....	48
<b>IV. DISCUSSION :</b> .....	<b>50</b>
A.    Historique.....	51

1.	Coronavirus .....	51
2.	Covid-19.....	52
B.	Epidémiologie .....	53
1.	La distribution géographique / et au Maroc.....	53
2.	L'agent pathogène .....	58
3.	Période d'incubation .....	63
4.	Contagiosité .....	64
5.	Mode de transmission .....	65
C.	Physiopathologie .....	67
1.	Inféction cellulaire et cycle de réplication .....	67
2.	Réponse immunitaire : .....	70
3.	Dysrégulation de RAAS :.....	74
D.	Diagnostic du covid-19.....	75
1.	Diagnostic clinique : .....	75
2.	Diagnostic biologique : .....	79
E.	Interprétation des résultats .....	90
1.	Performances diagnostiques des tests sérologiques d'après la littérature .....	90
2.	Performances diagnostiques des tests sérologiques d'après notre évaluation .....	92
<b>V.</b>	<b>RECOMMANDATION : .....</b>	<b>97</b>
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSION : .....</b>	<b>99</b>
<b>VII.</b>	<b>RESUME .....</b>	<b>101</b>
<b>VIII.</b>	<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>109</b>

## LISTE DE TABLEAUX :

Tableau 1 : les valeurs d'interprétation des résultats ELISA

Tableau 2 : les valeurs d'interprétation des résultats CLIA

Tableau 3 : les résultats de test ELISA Platelia

Tableau 4 : données de Répétabilité pour les échantillons (ELISA) positifs

Tableau 5 : données de Répétabilité pour les échantillons (ELISA) négatifs

Tableau 6 : données de reproductibilité pour les échantillons (ELISA) positifs

Tableau 7 : données de reproductibilité pour les échantillons(ELISA) négatifs

Tableau 8 : résultats des échantillons cas témoins pour le test (ELISA)

Tableau 9 : pourcentage de positivité de l'ensemble des AC pour le test ELISA selon le délai entre l'apparition des symptômes et prélèvement d'échantillon

Tableau 10 : les résultats de test CLIA Architect Abbott

Tableau 11 : données de Répétabilité pour les échantillons CLIA IgM (+)

Tableau 12 : données de Répétabilité pour les échantillons CLIA IgG (+)

Tableau 13 : données de Répétabilité pour les échantillons CLIA IgM (-)

Tableau 14 : données de Répétabilité pour les échantillons CLIA IgG (-)

Tableau 15 : données de reproductibilité pour les échantillons CLIA IgM (+)

Tableau 16 : données de reproductibilité pour les échantillons CLIA IgG (+)

Tableau 17 : données de reproductibilité pour les échantillons CLIA IgM (-)

Tableau 18 : données de reproductibilité pour les échantillons CLIA IgG (-)

Tableau 19 : résultats des échantillons cas témoins pour le test (CLIA)

Tableau 20 : pourcentage de positivité (IgM) pour le test CLIA selon le délai entre l'apparition des symptômes et prélèvement d'échantillon

Tableau 21 : pourcentage de positivité (IgG) pour le test CLIA selon le délai entre l'apparition des symptômes et prélèvement d'échantillon

Tableau 22 : le schéma taxonomique de SARS-CoV-2

Tableau 23 : les performances des deux tests : ELISA et chimiluminescence dans notre étude en comparaison avec d'autres études

Tableau 24 : regroupe les indications de test RT-PCR et la sérologie

## LISTE DE FIGURES :

Figure 1 : Thermocycleur CFX96 de BioRad™, (photo : laboratoire de biologie médicale, unité de biologie moléculaire et biosécurité de l'HMMI-Meknès)

Figure 2 : KIT de sérologie Platelia SARS-CoV2 Total Total Ab , (photo : laboratoire de biologie médicale, unité de biologie moléculaire et biosécurité de l'HMMI-Meknès)

Figure 3: Automate d'Evolis Twin Plus Bio-RAD, (photo : laboratoire de biologie médicale, unité de biologie moléculaire et biosécurité de l'HMMI-Meknès)

Figure 4: le kit SARS-CoV-2 IgG II Quant ARCHITECT, (photo : laboratoire de biologie médicale, unité de biologie moléculaire et biosécurité de l'HMMI-Meknès)

Figure 5 : Répartition mondiale du covid-19 en 2021

Figure 6 : nombre de cas de covid-19 au maroc de l'année 2021

Figure 7 : Classification et taxonomie des coronavirus humains (HCoV)

Figure 8 : Le virus SARS-CoV-2 et ses protéines.

Figure 9 : Particule de coronavirus en microscopie électronique

Figure 10 : Phylogénie, structure et réplication de SARS-COV 2

Figure 11 : mécanismes suspectés de la réaction immunitaire dans l'infection par le SARS-COV2

Figure 12 : présentation clinique et facteurs de sévérité de l'infection à SARS-COV-2.

Figure 13 : les différents tests de SARS-COV2

Figure 14 : Coupe sagittale des voies aériennes supérieures illustrant les modalités de réalisation d'un prélèvement rhino-pharyngé avec un écouvillon

Figure 15 : Principe de la RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction).

Figure 16 : Cinétique des marqueurs diagnostiques en fonction du stade de l'infection.

### LISTE DES ABREVIATIONS :

ACE2	: Angiotensin-converting enzyme 2
Ag	: Antigène
ARN	: Acide ribonucléique
CLIA	: chemiluminescence immuno-Assay
COVID 19	: Coronavirus Disease 2019
CV	: coefficient de variation
ECH	: Echantillon
EDTA	: Acide Ethylène Diamine Tétra-acétique
ELISA	: Enzyme Linked ImmunucSorbent Assay
H-COV	: Coronavirus Humains
HMMI	: Hospital Militarie Moulay Ismail
IgA	: Immunoglobulines A
ICTV	: International Committee on Taxonomy of Viruses
IgG	: Immunoglobulines G
IgM	: Immunoglobulines M
MERS	: Middle East Respiratory Syndrome
MERS-CoV	: Le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient.
MHV	: Murine hepatitis virus
NK	: natural killer
NPS	: naso-pharyngeal swab
NSP	: Protéines non structurales
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
ORF	: Open reading frame
PRRs	: Pattern Recognition Receptors
RAAS	: Système rénine angiotensine aldostérone
RTC	: Complexe de réplication-transcription
RT-PCR	: Reverse Transcription- Polymérase Chain Réaction
SARS-COV2	: Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

SDRA	: Syndrome de détresse respiratoire aiguë
Se	: sensibilité
Spé	: spécificité
TLR	: Toll-like receptor
TGEV	: transmissible gastro-enteritis virus
TNF	: Facteur de nécrose tumorale
IBV	: Institut de Biologie Valrose
URL	: unite relative de la lumière

# INTRODUCTION

La propagation du nouveau coronavirus Sars-COV-2, découvert en Chine à Wuhan en janvier 2020, a mené à une pandémie mondiale dès mars 2020, obligeant chaque système de soins des pays touchés à une adaptation rapide. [1]

Le SARS-COV-2 est un virus de la famille des Coronaviridae. La transmission habituelle des coronavirus est de type respiratoire « gouttelettes » et contact. [2]

La présentation clinique de cette maladie, appelée « coronavirus infectious disease 2019 » (Covid-19), varie de formes asymptomatiques ou de symptômes modérés de type pseudo-grippal à une pneumonie bilatérale sévère avec détresse respiratoire aigue, avec ou sans troubles de l'hémostase pouvant aller jusqu'au décès. [3]

En phase aiguë de la maladie, la présence du virus SARS-CoV-2 peut être détectée par l'amplification de son ARN (diagnostic moléculaire) ou par la détection des protéines virales (diagnostic antigénique) à partir de prélèvements nasopharyngés. A ce jour, le test moléculaire par RT-PCR permettant la détection du génome du coronavirus SARS-CoV-2 est la seule technique de diagnostic biologique du COVID-19 recommandée. [3]

Toutefois, en phase de développement de l'immunité, soit quelques jours suivant l'apparition des symptômes, la charge virale peut être réduite et le diagnostic pourrait potentiellement être plus efficacement précisé par un test sérologique. Dans le contexte actuel, la sérologie pourrait permettre de détecter des anticorps dirigés contre le SARS-Cov-2 chez une personne ayant été exposée ou présentant les symptômes de la COVID-19. [3]

La progression rapide de la pandémie de COVID-19 dans le monde révèle les limites actuelles de nos capacités de diagnostic virologique direct par amplification des acides nucléiques et suscite une polémique sur le manque de disponibilité de

tests a visée diagnostique [3]. D'où l'intérêt de mettre en valeur la place des tests immunologiques dans le diagnostic de COVID-19 en comparaison à la biologie moléculaire.

Ces diagnostics pourraient être élargis et ciblés dans le but d'identifier les foyers d'infections et de renforcer des procédures de confinement et d'isolement des personnes infectées. Ainsi, ces tests seront essentiels pour le suivi et l'évaluation des futurs traitements et pour accompagner la sortie du confinement, incluant celle des convalescents. [3]

→ Ce travail a pour objectif de définir les performances et la place des tests sérologiques : ELISA et CLIA, dans la prise en charge de la maladie COVID-19 en prenant la RT- PCR comme Gold standard.

# PATIENTS

# ET METHODES

## **A. Patients :**

### **1. Type, lieu et période de l'étude :**

Il s'agissait d'une étude prospective, réalisée au laboratoire de biologie médicale à Hôpital Militaire Moulay Ismail de Meknès (HMMIM) , unité biologie moléculaire et biosécurité , sur une période de 8 mois allant du 1<sup>er</sup> Juin 2020 à 30 janvier 2021.

### **2. Critères d'inclusion :**

Nous avons inclus des patients diagnostiqués positif au COVID-19 par la RT-PCR et hospitalisés à HMMI Meknès, nous avons aussi inclus un groupe témoin : sérums des donneurs de sang datant du mois de novembre 2019 avant la pandémie (sérothèque service sérologie) pour évaluer la spécificité des tests sérologiques :

- Pour le test ELISA (PLATELIA Sars-Cov-2 total Ab de Biorad) : nous avons choisi Un nombre de 31 échantillons sanguins à partir de malades démontrés Sars-Cov-2 positifs par RT-PCR temps réel à l'aide du réactif GeneFinder® sur CFX96 de BioRad™ (figure 1) et 10 échantillons des donneurs de sang( témoins négatifs pour la COVID-19).
- Pour le test CLIA (Architect Abbott) : nous avons choisi 82 échantillons sanguins à partir de malades prélevés par écouvillonnage naso-pharyngé et démontrés Sars-Cov-2 positifs par RT-PCR temps réel, et 14 échantillons des donneurs de sang ( témoins négatifs pour la COVID-19).

### **3. Critères de non-inclusion**

N'était pas inclus dans notre étude les patients pour lesquels le diagnostic sérologique a été positif sans confirmation par RT-PCR.



## **B. Méthodes :**

### **1. Recueil des données :**

Les données sérologiques (IgM et IgG) ont été recueillies sur un tableau à l'aide de logiciel Excel pour les techniques suivantes : CLIA, ELISA

### **2. Techniques de diagnostic utilisées :**

#### **a) ELISA sur automate Evolis de Biorad :**

Les échantillons sanguins ont été testés par technique immuno-enzymatique : Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) , sur l'instrument Evolis Twin plus Biorad (figure 2) à l'aide du test Platelia Cov-2 Total Ab (figure 3) après la notification de la FDA suivant les instructions du fabricant. L'essai est un test en une étape permettant une détection semi-quantitative des anticorps totaux (IgM/IgA/IgG) dans le sérum ou plasma (EDTA-héparine-citrate) d'origine humaine dirigé contre la nucléoprotéine (N) de SRAS-CoV-2. Le fabricant a signalé une sensibilité de 73% inférieure à 8 jours après l'apparition des symptômes et de 100% après 14 jours, en utilisant la RT-PCR comme technique Gold Standard [77]



Figure 1: Thermocycleur CFX96 de BioRad™, (photo : laboratoire de biologie médicale, unité de biologie moléculaire et biosécurité de l'HMMI-Meknès)



Figure 2: Automate d'Evolis Twin Plus Bio-RAD, (photo : laboratoire de biologie médicale, unité de biologie moléculaire et biosécurité de l'HMMI-Meknès)



Figure 3 : KIT de sérologie Platelia SARS-CoV2 Total Ab , (photo : laboratoire de biologie médicale, unité de biologie moléculaire et biosécurité de l'HMMI-Meknès)

- Principe de la technique :

- Le test utilisait une protéine recombinante de nucléocapside du virus du SARS sous un format en une étape.
- Les échantillons de sérum ou de plasma ainsi que les contrôles ont été pré-dilués. Le conjugué (protéine recombinante de nucléocapside du virus SARS couplée à la peroxydase) a été ajouté à chaque échantillon. Le mélange était ensuite incubé pendant une heure à 37°C dans des puits sensibilisés avec des protéines recombinantes de nucléocapside du virus SARS. Pendant cette étape d'incubation, s'il y avait présence d'anticorps IgM et/ou IgG et/ou IgA dans l'échantillon, il y a eu alors formation d'un complexe immun avec les protéines recombinantes de nucléocapside du virus SARS déposées à la surface des puits, et les protéines recombinantes de nucléocapside du virus SARS couplées à la peroxydase.
- Après une étape de lavage, la présence des complexes immuns (protéine recombinante de nucléocapside du virus SARS / anticorps anti-nucléocapside du virus SARS-CoV-2 / protéine recombinante de nucléocapside du virus SARS couplée à la peroxydase) était mise en évidence par la distribution d'une solution chromogénique induisant une réaction colorée.
- Après 30 minutes d'incubation à température ambiante, la réaction enzymatique était arrêtée avec l'ajout d'une solution acide. La valeur de densité optique est obtenue grâce à un spectrophotomètre à 450 / 620 nm et était proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon. La présence d'anticorps anti-nucléocapside du SARS-CoV-2 au sein d'un échantillon est mise en évidence, en effectuant un ratio entre la densité optique de l'échantillon et celle du contrôle seuil.

- Mode opératoire :

Équipement nécessaire mais non fourni

1. Eau distillée ou complètement déminéralisée pour diluer la solution de lavage concentrée
  2. Eau de Javel et bicarbonate de soude
  3. Papier absorbant
  4. Films adhésifs
  5. Gants à usage unique
  6. Tubes à usage unique
  7. Pipettes automatiques ou semi-automatiques réglables ou fixes pouvant distribuer des volumes de 10 µl à 1000 µl, 1 ml, 2 ml et 10 ml.
  8. Epprouvettes graduées de 25 ml, 50 ml, 100 ml et 1000 ml. Agitateur type vortex.
  9. Système de lavage automatique, semi-automatique ou manuel pour microplaque, bain-  
marie, ou incubateur sec pouvant être thermostaté à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  (\*).
  10. Appareil de lecture pour microplaques équipés de filtres 450 et 620 nm (\*).
  11. Conteneur de déchets contaminés
- Préparation des réactifs :

### Réactifs prêts à l'emploi

Réactif 1 (R1): Microplaque Chaque support cadre contenant 12 barrettes est conditionné en sachet aluminium scellé. Couper le sachet à l'aide de ciseaux ou scalpel 0,5 à 1 cm au-dessus de la soudure. Ouvrir le sachet et sortir le cadre. Replacer dans le sachet les barrettes inutilisées. Refermer le sachet soigneusement et le replacer à +2-8°C.

Réactif 3 (R3): Contrôle négatif, Réactif 4 (R4): Contrôle seuil, Réactif 5 (R5): Contrôle positif, Réactif 6 (R6): Conjugué, Réactif 7 (R7): Diluant de l'échantillon Ces réactifs sont prêts à l'emploi.

### Réactifs à reconstituer

#### Réactif 2 (R2): Solution de lavage concentrée (20X)

Préparer la solution de travail en diluant 20 fois la solution dans l'eau distillée (50 mL de R2 dans 950 ml d'eau distillée). Prévoir 800 ml de solution de travail pour une plaque de 12 barrettes, en excluant le volume mort en fonction de l'équipement utilisé.

#### Réactif 8 (R8) + Réactif 9 (R9): Solution de révélation enzymatique

Diluer le réactif R9 dans le réactif R8 au 1/11e (exemple : 1 ml de réactif R9 dans 10 ml de réactif R8) sachant que 10 ml sont nécessaires et suffisants pour traiter 12 barrettes. Homogénéiser.

#### ➤ Protocole opératoire :

Suivre strictement la procédure et les bonnes pratiques de laboratoire.

 Avant utilisation, sortir les réactifs de la boîte et attendre 30 minutes que les réactifs s'équilibrent à température ambiante (+18-30°C).

 Utiliser les contrôles positif et négatif pour chaque série de test afin de valider les résultats.

✚ Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.

- Interprétation des résultats :

Tableau 1 : les valeurs d'interprétation des résultats ELISA

Ratio Echantillon	Résultat
$R < 0,8$	Négatif
$0,8 < R < 1,0$	Douteux
$R > 1,0$	Positif

- Un échantillon avec un ratio inférieur à 0.8 est considéré comme étant «**Négatif**» pour la présence d'anticorps anti-SARS-CoV-2.
- Un échantillon avec un ratio compris entre 0.8 et 1.0 est considéré comme étant «**Douteux**» pour la présence d'anticorps anti-SARS-CoV-2. Il devrait alors être retesté en duplicate avant interprétation finale. En cas de résultat douteux répétable, un autre échantillon devrait être collecté et testé quelques jours plus tard.
- Un échantillon avec un ratio supérieur à 1.0 est considéré comme étant «**positif**» pour la présence d'anticorps anti-SARS-CoV-2.

### b) Chimiluminescence Architect Abbott :

Les échantillons ont été analysés par la technique Chemiluminescence Immunoassay (CLIA) sur Architect Abbott 1000i à l'aide de : SARS-CoV2 (IgG II Quant Reagent Abbott®).

Ce test permet la détection des anticorps immunoglobulines de classe G (IgG) , y compris les anticorps neutralisants , dirigés contre le domaine de fixation du récepteur (RDB) de la sous-unité S1 de la protéine Spike du SARS-CoV-2 dans le serum et le plasma de personnes atteintes par le coronavirus (COVID-19) .

- Principes biologiques de la méthode :

Il s'agissait d'un dosage immunologique automatisé en deux étapes pour la détection qualitative et la détermination quantitative des anticorps IgG dirigés contre le SARS-CoV-2 dans le sérum et le plasma humains utilisant la technologie de dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA) .

L'échantillon, les microparticules paramagnétiques recouvertes d'antigène SARS-CoV-2 et le diluant de dosage étaient mis en présence et incubés. Les anticorps IgG dirigés contre le SARS-CoV-2 présents dans l'échantillon se liaient aux microparticules recouvertes d'antigène SARS-CoV-2 . Après lavage, le conjugué d'anticorps anti-IgG humaines marqué à l'acridinium a été ajouté pour former un mélange réactionnel puis incubé. Après un autre cycle de lavage, les solutions de pré-activation et d'activation étaient ajoutées.

La réaction chimiluminescente résultante était mesurée en unités relatives de lumière ( URL) . il existe une relation directe entre la quantité d'anticorps IgG dirigés contre le SARS-CoV-2 présente dans l'échantillon et les URL détectées par le système optique.

- Préparation et manipulation des réactifs :
  - Les réactifs sont expédiés sur de la glace.
  - Ne pas mélanger les réactifs provenant d'un même Kit ou de Kits de réactifs différents.
  - Avant de charger le Kit de réactifs sur l'analyseur pour la première fois, le flacon de microparticule a été homogénéisé afin de remettre en suspension les microparticules qui ont pu se déposer pendant le transport.
  - Des septums ont été utilisés afin d'empêcher l'évaporation et la contamination des réactifs et d'assurer leur intégrité.
  - Port des gants propres lors de la mise en place d'un septum sur un flacon de réactif débouché est obligatoire, afin d'éviter toute contamination.
  - Une fois que le septum a été placé sur un flacon de réactif ouvert, ne pas retourner le flacon afin d'éviter toute fuite de réactif et de ne pas compromettre les résultats de dosage.
  - Lors de la manipulation de flacons de conjugué, on 'a changé les gants entrés en contact avec du plasma ou du sérum humain. Toute introduction d'IgG humaines pouvant entraîner la neutralisation du conjugué.
- Conservation des réactifs :
  - Il ne faut pas congeler les réactifs, la température de conservation doit être comprise entre 2° et 8°.
  - Les réactifs peuvent être conservés à l'intérieur ou à l'extérieur de l'ARCHITECT i System. Si les réactifs sont retirés de l'analyseur, il faut les conserver entre 2° et 8 °C en position verticale. Pour les réactifs conservés à l'extérieur de l'analyseur, il est recommandé de les placer dans leurs portoirs et emballages d'origine afin de les maintenir dans une position verticale.

- Interprétation des résultats :

- Le dosage SARS-CoV-2 IgG II Quant utilise une méthode de traitement des données par ajustement de la courbe logistique à 4 paramètres (4PLC, pondération en Y) pour créer une courbe de calibration et générer les résultats.
- La valeur seuil est de 50.0 AU/MI.
- Comme pour la détermination de toute substance, le résultat doit être utilisé en association avec les informations fournies par l'évaluation clinique et d'autres méthodes diagnostiques.

Tableau 2 : les valeurs d'interprétation des résultats CLIA

AU/MI	Résultat
<50.0	Négatif
>/= 50.0	Positif



Figure 4 : le kit SARS-CoV-2 IgG II Quant ARCHITECT, (photo : laboratoire de biologie médicale, unité de biologie moléculaire et biosécurité de l'HMMI-Meknès)

⇒ Les résultats étaient analysés pour chaque test en termes de sensibilité et de spécificité en prenant la PCR comme gold standard. D'autres propriétés étaient étudiées à savoir la répétabilité et la reproductibilité.

Toutes les étapes de la phase pré-analytique ont été vérifiées et respectées (identification, conformité des prélèvements, étiquetage ...).

Pour l'étape analytique (préparations des réactifs ; mode d'emplois et le déroulement de l'analyse) nous avons scrupuleusement appliqué les instructions du fabricant via le prospectus fourni avec les kits.

# RESULTATS

**A. RESULTATS DE TEST ELISA :****1. Résultats d'évaluation de test ELISA (PLATELIA Sars-Cov-2 total Ab de Biorad) (n=41) :**

Sur un échantillon de 31 cas (Covid-19) positifs par RT-PCR, nous avons trouvé 21 cas positifs et 10 cas négatifs sur ELISA, tandis que les 10 cas témoins sont revenus négatifs.

➤ Tableau (3) : les résultats de test ELISA PLATELIA

N° ECH	TYPE ECHANTILLION	Délai entre symptômes et prélèvement	RESULTAT PCR	RESULTAT ELISA (PLATELIA)	INDEX
1	PLASMA	9	+	+	3,626
2	PLASMA	10	+	+	3,85
3	PLASMA	11	+	+	3,808
4	PLASMA	9	+	+	1,738
5	PLASMA	13	+	+	3,803
6	PLASMA	9	+	+	3,217
7	PLASMA	13	+	+	3,355
8	PLASMA	13	+	+	3,853
9	PLASMA	9	+	+	3,818
10	PLASMA	10	+	+	3,558
11	PLASMA	2	+	+	3,71
12	PLASMA	16	+	+	3,847
13	PLASMA	9	+	+	2,093
14	PLASMA	10	+	+	2,821
15	PLASMA	15	+	+	3,626
16	PLASMA	9	+	+	1,533
17	PLASMA	10	+	+	3,632
18	PLASMA	7	+	+	2,803
19	PLASMA	7	+	+	3,905
20	PLASMA	7	+	+	3,624
21	PLASMA	8	+	+	1,82

22	PLASMA	2	+	-	0,206
23	PLASMA	2	+	-	0,193
24	PLASMA	2	+	-	0,247
25	PLASMA	4	+	-	0,165
26	PLASMA	2	+	-	0,191
27	PLASMA	2	+	-	0,098
28	PLASMA	3	+	-	0,146
29	PLASMA	5	+	-	0,197
30	PLASMA	7	+	-	0,336
31	PLASMA	8	+	-	0,338
32	PLASMA	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,21
33	PLASMA	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,186
34	PLASMA	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,186
35	PLASMA	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,154
36	PLASMA	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,159
37	PLASMA	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,24
38	PLASMA	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,179
39	PLASMA	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,146
40	PLASMA	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,166
41	PLASMA	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,12

➔ Tous les patients dont les symptômes datent de 9 jours ou plus, (n=16) avaient une sérologie positive pour la technique ELISA (Biorad).

➔ Pour les patients dont cette date est de 08 jours, (n=02) 50% avaient une sérologie positive.

➔ Pour ceux dont cette date est de 07 jours (n=04), 75% (n=03) avaient une sérologie positive et 25% (n=01) une sérologie négative.

➔ Pour les patients dont cette date est inférieure de 07 jours (n=09), 11,11% (n=01) avaient une sérologie positive et 88,89% (n=08) une sérologie négative.

## 2. Répétabilité pour les échantillons ELISA :

- **Définition** : Etre d'accord entre des résultats successifs obtenus avec la même méthode sur une matière identique soumise à l'essai dans les mêmes conditions (même opérateur, même appareil de mesure, même laboratoire, répétitions sur une courte durée). Elle s'exprime généralement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats (écart-type).

### a. Répétabilité pour les échantillons (ELISA) positifs :

Les résultats des tests de la répétabilité pour les échantillons (ELISA) positifs sont résumés dans le tableau ci-dessous :

➤ Tableau 4 : les données de Répétabilité pour les échantillons (ELISA) positifs

N° ECHANT	SERIE 1	SERIE 2	INDEX VAL1	INDEX VAL2	MOYENNE	ECART TYPE	CV%
1	+	+	3,626	3,65	3,638	0,01697056	0,47%
2	+	+	3,85	3,861	3,8555	0,00777817	0,20%
3	+	+	3,808	3,871	3,8395	0,04454773	1,16%
4	+	+	1,738	1,75	1,744	0,00848528	0,49%
5	+	+	3,803	3,861	3,832	0,04101219	1,07%
6	+	+	3,217	3,546	3,3815	0,23263813	6,88%
7	+	+	3,355	3,847	3,601	0,34789654	9,66%
8	+	+	3,853	3,948	3,9005	0,06717514	1,72%
9	+	+	3,818	3,773	3,7955	0,03181981	0,84%
10	+	+	3,558	3,81	3,684	0,17819091	4,84%
11	+	+	3,71	3,841	3,7755	0,09263099	2,45%
12	+	+	3,847	3,818	3,8325	0,0205061	0,54%
13	+	+	2,093	1,905	1,999	0,13293607	6,65%
14	+	+	2,821	2,722	2,7715	0,07000357	2,53%
15	+	+	3,626	3,636	3,631	0,00707107	0,19%
16	+	+	1,533	1,43	1,4815	0,072832	4,92%
17	+	+	3,632	3,702	3,667	0,04949747	1,35%
18	+	+	2,803	2,75	2,7765	0,03747666	1,35%
19	+	+	3,905	3,705	3,805	0,14142136	3,72%
20	+	+	3,624	3,725	3,6745	0,07141778	1,94%

21	+	+	1,82	1,9	1,86	0,05656854	3,04%
----	---	---	------	-----	------	------------	-------

➔ Les coefficients de variation (cv) obtenus sur les échantillons positifs sont inférieurs à 10% pour la répétabilité.

b. Répétabilité pour les échantillons (ELISA) négatifs :

Les résultats des tests de la répétabilité pour les échantillons (ELISA) négatifs sont résumés dans le tableau ci-dessous :

➤ Tableau 5 : données de Répétabilité pour les échantillons (ELISA) négatifs

N° ECHANT	SERIE1	SERIE2	INDEX VAL1	INDEX VAL2	MOYENNE	ECART TYPE	CV%
1	-	-	0,206	0,211	0,2085	0,00353553	1,70%
2	-	-	0,193	0,181	0,187	0,00848528	4,54%
3	-	-	0,247	0,258	0,2525	0,00777817	3,08%
4	-	-	0,165	0,272	0,2185	0,07566043	34,63%
5	-	-	0,191	0,181	0,186	0,00707107	3,80%
6	-	-	0,098	0,154	0,126	0,03959798	31,43%
7	-	-	0,146	0,195	0,1705	0,03464823	20,32%
8	-	-	0,197	0,214	0,2055	0,01202082	5,85%
9	-	-	0,336	0,24	0,288	0,06788225	23,57%
10	-	-	0,338	0,278	0,308	0,04242641	13,77%

### 3. La reproductibilité pour les échantillons ELISA :

- **Définition :** Etre d'accord entre les résultats individuels obtenus avec la même méthode sur une matière identique soumise à l'essai dans des conditions différentes (par exemple, avec des opérateurs différents ou des laboratoires différents). Elle s'exprime généralement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats (écart-type).

a. Reproductibilité pour les échantillons (ELISA) positifs :

Les résultats des tests de la reproductibilité pour les échantillons (ELISA) positifs sont résumés dans le tableau ci-dessous :

➤ Tableau 6 : données de reproductibilité pour les échantillons (ELISA) positifs

SERIE 1	INDEX VAL1	SERIE 2	INDEX VAL2	MOYENNE	ECART TYPE	CV%
+	3,626	+	3,612	3,619	0,00494975	0,14%
+	3,85	+	3,725	3,7875	0,04419417	1,17%
+	3,808	+	3,655	3,7315	0,05409367	1,45%
+	1,738	+	1,6	1,669	0,04879037	2,92%
+	3,803	+	3,7	3,7515	0,036416	0,97%
+	3,217	+	3,1	3,1585	0,04136575	1,31%
+	3,355	+	3,304	3,3295	0,01803122	0,54%
+	3,853	+	3,75	3,8015	0,036416	0,96%
+	3,818	+	3,8	3,809	0,00636396	0,17%
+	3,558	+	3,5	3,529	0,0205061	0,58%

➔ Les coefficients de variation (cv) obtenus sur les échantillons positifs sont inférieurs à 3% pour la reproductibilité.

b. Reproductibilité pour les échantillons (ELISA) négatifs :

Les résultats des tests de la reproductibilité pour les échantillons (ELISA) négatifs sont résumés dans le tableau ci-dessous :

➤ Tableau 7: données de reproductibilité pour les échantillons(ELISA) négatifs

SERIE1	INDEX VAL1	SERIE2	VAL INDEX 2	MOENNE	ECART TYPE	CV%
-	0,206	-	0,247	0,2265	0,02899138	12,80%
-	0,193	-	0,181	0,187	0,00848528	4,54%
-	0,247	-	0,24	0,2435	0,00494975	2,03%
-	0,165	-	0,154	0,1595	0,00777817	4,88%
-	0,191	-	0,198	0,1945	0,00494975	2,54%
-	0,098	-	0,12	0,109	0,01555635	14,27%
-	0,146	-	0,152	0,149	0,00424264	2,85%
-	0,179	-	0,195	0,187	0,01131371	6,05%
-	0,336	-	0,372	0,354	0,02545584	7,19%
-	0,338	-	0,336	0,337	0,00141421	0,42%

➔ Les coefficients de variation (cv) obtenus sur les échantillons négatifs pour la reproductibilité sont compris entre 0 ,42 % et 14%.

#### 4. La spécificité du test ELISA :

- **Définition :** 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 (T-) chez les patients définis comme non malades (M-) appelée également taux de vrais négatifs.

$$\text{Spé} = p(T- / M-)$$

Un total de 10 échantillons de la sérothèque du laboratoire d'immuno-sérologie de la même formation a été analysé. Ces échantillons appartenant à des donneurs de sang en période avant Covid-19 (novembre 2019). Ils se sont tous révélés négatifs.

➤ Tableau 8 : résultats des échantillons cas témoins pour le test (ELISA)

N° ECH	TYPE ECH	IDENTIF	Délai entre symptômes et prélèvement	RESULTAT PCR	RESULTATS ELISA PLATELIA	INDEX
32	PLASMA	SEROT1	ANTE COVID	ANTE COVID2	-	0,21
33	PLASMA	SEROT2	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,186
34	PLASMA	SEROT3	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,186
35	PLASMA	SEROT4	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,154
36	PLASMA	SEROT5	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,159
37	PLASMA	SEROT6	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,24
38	PLASMA	SEROT7	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,179
39	PLASMA	SEROT8	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,146
40	PLASMA	SEROT9	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,166
41	PLASMA	SEROT10	ANTE COVID	ANTE COVID	-	0,12

➔Aucun faux positif n'a été observé : la spécificité est à 100%.

## 5. La sensibilité du test ELISA :

- **Définition :** la sensibilité est déterminée sur une population de patients dont le statut (malade) est connu grâce au test de référence . C'est la probabilité (p) du résultat positif du test (T+) chez les sujets porteurs de la maladie (M+) telle qu'elle est définie par le gold standard appelée également taux de vrais positifs .

$$Se = p(T+ / M+)$$

Un total de 31 échantillons sanguins de malades démontrés Sars-Cov-2 positifs par RT-PCR temps réel sur CFX96 de BioRad™ à l'aide du réactif GeneFinder® et provenant de l'HMMI et de l'Hôpital provincial de Khénifra ; avec un délai entre l'apparition des symptômes et le prélèvement sanguin compris entre 2 et 16 jours. Le tableau ci-dessous indique le moment où le premier résultat positif a été détecté pour chaque patient selon le délai entre l'apparition des symptômes et le prélèvement de l'échantillon.

- Tableau 9 : pourcentage de positivité de l'ensemble des AC pour le test ELISA selon le délai entre l'apparition des symptômes et prélèvement d'échantillon

Délai entre symptômes et prélèvement	+	-	TOTAL	POSITIVITE
< 7 JOURS	1	8	9	11,11%
7 à 16 J	20	2	22	90,91%
Total	21	10	31	

- . ➔ La sensibilité est de 90,9% quand le délai entre l'apparition des symptômes et le prélèvement sanguin est supérieur ou égal à sept jours



## **B. RESULTATS DE TEST CLIA :**

### **1. Résultats d'évaluation de test CLIA (Architect Abbott) (n=96):**

Sur un échantillon de 82 cas (Covid-19) positifs par RT-PCR, nous avons trouvé les résultats suivant pour le test CLIA :

- IgM : 54 cas positifs et 28 cas négatifs
- IgG : 32 cas positifs et 50 cas négatifs

Les 14 cas témoins sont revenus négatifs.

Tableau 10 : résultats de test CLIA Architect Abbott

N° ECH	TYPE ECHANTILLION	Délai entre symptômes et prélèvement	RESULTAT PCR	CLIA ABBOTT IGM	CLIA ABBOTT IGG
1	PLASMA	12	+	+	-
2	PLASMA	10	+	+	-
3	PLASMA	13	+	+	+
4	PLASMA	14	+	+	+
5	PLASMA	8	+	+	-
6	PLASMA	11	+	+	-
7	PLASMA	13	+	+	+
8	PLASMA	20	+	+	+
9	PLASMA	8	+	+	-
10	PLASMA	15	+	+	+
11	PLASMA	19	+	+	+
12	PLASMA	16	+	+	+
13	PLASMA	7	+	+	-
14	PLASMA	10	+	+	-
15	PLASMA	12	+	+	-
16	PLASMA	8	+	+	-
17	PLASMA	8	+	+	-
18	PLASMA	14	+	+	+
19	PLASMA	20	+	+	-
20	PLASMA	15	+	+	+
21	PLASMA	12	+	+	-
22	PLASMA	22	+	+	+
23	PLASMA	21	+	+	+
24	PLASMA	26	+	+	+
25	PLASMA	15	+	+	+
26	PLASMA	12	+	+	+
27	PLASMA	16	+	+	+
28	PLASMA	8	+	+	-
29	PLASMA	30	+	+	+
30	PLASMA	17	+	+	+
31	PLASMA	7	+	+	+
32	PLASMA	17	+	+	-
33	PLASMA	12	+	+	+
34	PLASMA	15	+	+	+
35	PLASMA	16	+	+	+
36	PLASMA	8	+	+	-
37	PLASMA	9	+	+	-
38	PLASMA	11	+	+	-
39	PLASMA	19	+	+	+
40	PLASMA	9	+	+	-
41	PLASMA	22	+	+	+
42	PLASMA	11	+	+	-
43	PLASMA	30	+	+	+
44	PLASMA	8	+	+	-

45	PLASMA	7	+	+	-
46	PLASMA	16	+	+	+
47	PLASMA	12	+	+	+
48	PLASMA	8	+	+	-
49	PLASMA	9	+	+	-
50	PLASMA	8	+	+	-
51	PLASMA	12	+	+	-
52	PLASMA	9	+	+	-
53	PLASMA	25	+	+	+
54	PLASMA	8	+	+	-
55	PLASMA	5	+	-	-
56	PLASMA	2	+	-	-
57	PLASMA	2	+	-	-
58	PLASMA	4	+	-	-
59	PLASMA	1	+	-	-
60	PLASMA	16	+	-	+
61	PLASMA	18	+	-	+
62	PLASMA	3	+	-	-
63	PLASMA	4	+	-	-
64	PLASMA	5	+	-	-
65	PLASMA	12	+	-	-
66	PLASMA	16	+	-	+
67	PLASMA	20	+	-	-
68	PLASMA	3	+	-	-
69	PLASMA	2	+	-	-
70	PLASMA	4	+	-	-
71	PLASMA	6	+	-	-
72	PLASMA	3	+	-	-
73	PLASMA	3	+	-	-
74	PLASMA	20	+	-	+
75	PLASMA	14	+	-	+
76	PLASMA	1	+	-	-
77	PLASMA	3	+	-	-
78	PLASMA	5	+	-	-
79	PLASMA	3	+	-	-
80	PLASMA	6	+	-	-
81	PLASMA	8	+	-	-
82	PLASMA	9	+	-	-
83	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
84	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
85	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
86	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
87	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
88	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
89	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
90	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
91	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
92	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
93	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
94	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
95	PLASMA	TEMOIN	-	-	-

---

96	PLASMA	TEMOIN	-	-	-
----	--------	--------	---	---	---

→ Les patients dont les symptômes datent de 01 à 07 jours (n=22) :

- 13,63% (n=03) avaient une sérologie à IgM positive pour la technique CLIA.
- et 4,4% (n=01) avaient une sérologie à IgG positive pour la technique CLIA.

→ Pour les patients dont cette date est comprise entre 08 et 14 jours (n=34) :

- 88,23% (n=30) avaient une sérologie à IgM positive.
- Et 23,53% (n=08) avaient une sérologie à IgG positive.

→ Pour ceux dont cette date supérieure ou égale à 15 jours (n=26) :

- 80,76% (n=21) avaient une sérologie à IgM positive.
- et 88,46% (n=23) avaient une sérologie à IgG positive.

## 2. Répétabilité pour les échantillons Chimiluminescence :

### a. Répétabilité pour les échantillons (CLIA) positifs :

Les résultats des tests de répétabilité pour les échantillons CLIA positifs sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

#### → IgM (+) :

#### ➤ Tableau 11 : données de Répétabilité pour les échantillons CLIA IgM

(+)

N°ECH	SERIE 1	SERIE 2	INDEX 1	INDEX 2	Moyenne	Ecart type	CV
1	+	+	14,6	14,02	14,31	0,41012193	2,87%
2	+	+	7,54	7,29	7,415	0,1767767	2,38%
3	+	+	59,6	60,3	59,95	0,49497475	0,83%
4	+	+	17,2	17	17,1	0,14142136	0,83%
5	+	+	2,11	2,04	2,075	0,04949748	2,39%
6	+	+	20,5	21,4	20,95	0,6363961	3,04%
7	+	+	52,7	50,5	51,6	1,55563492	3,01%
8	+	+	4,02	4,68	4,35	0,46669048	10,73%
9	+	+	8,64	8,08	8,36	0,3959798	4,74%
10	+	+	12,7	12,5	12,6	0,14142136	1,12%
11	+	+	6,79	6,83	6,81	0,02828427	0,42%
12	+	+	12,5	13,3	12,9	0,56568543	4,39%
13	+	+	3,72	3,5	3,61	0,15556349	4,31%
14	+	+	22,4	23,5	22,95	0,77781746	3,39%
15	+	+	16,2	15,9	16,05	0,21213203	1,32%
16	+	+	1,9	2,06	1,98	0,11313709	5,71%
17	+	+	1,96	2,19	2,075	0,16263456	7,84%
18	+	+	6,74	6,53	6,635	0,14849242	2,24%
19	+	+	3,81	4,19	4	0,26870058	6,72%
20	+	+	5,3	5,08	5,19	0,15556349	3,00%
21	+	+	21,6	22,6	22,1	0,70710678	3,20%
22	+	+	2,25	2,11	2,18	0,09899495	4,54%
23	+	+	13,2	13,2	13,2	0	0,00%
24	+	+	2,49	2,24	2,365	0,1767767	7,47%
25	+	+	10,2	10,4	10,3	0,14142136	1,37%
26	+	+	5,95	6,04	5,995	0,06363961	1,06%
27	+	+	33,8	36,6	35,2	1,97989899	5,62%
28	+	+	6,38	5,96	6,17	0,29698485	4,81%
29	+	+	2,44	2,59	2,515	0,10606602	4,22%
30	+	+	4,07	4,33	4,2	0,18384776	4,38%

31	+	+	1,28	1,33	1,305	0,03535534	2,71%
32	+	+	34,8	34,6	34,7	0,14142136	0,41%

==> Les coefficients de variations (CV) obtenus sur les échantillons IGM positifs sont inférieurs à 10,73% pour la répétabilité.

**→ IgG (+) :**

➤ Tableau 12 : données de Répétabilité pour les échantillons CLIA IgG (+)

N°ECH	SERIE 1	SERIE 2	INDEX VAL 1	INDEX VAL 2	MOYEN	ECART TYPE	CV
1	+	+	4,25	4,56	4,405	0,2192031	4,98%
2	+	+	6,25	6,02	6,135	0,16263456	2,65%
3	+	+	12,4	12,5	12,45	0,07071068	0,57%
4	+	+	24,25	23,79	24,02	0,32526912	1,35%
5	+	+	8,75	9,02	8,885	0,19091883	2,15%
6	+	+	18,25	17,89	18,07	0,25455844	1,41%
7	+	+	11,75	12,04	11,895	0,20506097	1,72%
8	+	+	9,89	10,2	10,045	0,2192031	2,18%
9	+	+	12,7	12,5	12,6	0,14142136	1,12%
10	+	+	33,8	36	34,9	1,55563492	4,46%
11	+	+	52,7	50,5	51,6	1,55563492	3,01%
12	+	+	58,9	60,02	59,46	0,7919596	1,33%
13	+	+	5,3	5,08	5,19	0,15556349	3,00%
14	+	+	1,28	1,33	1,305	0,03535534	2,71%
15	+	+	15,75	16,24	15,995	0,34648232	2,17%
16	+	+	49,03	48,96	48,995	0,04949748	0,10%
17	+	+	25,02	25,23	25,125	0,14849242	0,59%
18	+	+	1,08	1,03	1,055	0,03535534	3,35%
19	+	+	9,89	10,2	10,045	0,2192031	2,18%
20	+	+	16,21	16,23	16,22	0,01414214	0,09%

==> Les coefficients de variations (CV) obtenus sur les échantillons IGG positifs sont compris entre 0,09 et 4,98 pour la répétabilité.

## b. Répétabilité pour les échantillons (CLIA) négatifs :

Les résultats des tests de répétabilité pour les échantillons CLIA négatifs sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

## ➔ IgM (-) :

➤ Tableau 13: données de Répétabilité pour les échantillons CLIA IgM (-)

N° ECH	SERIE 1	SERIE 2	INDEX VAL1	INDEX VAL2	MOYENNE	ECART TYPE	CV%
1	-	-	0,712	0,74	0,726	0,01979899	2,73%
2	-	-	0,32	0,328	0,324	0,00565685	1,75%
3	-	-	0,445	0,412	0,4285	0,02333452	5,45%
4	-	-	0,392	0,41	0,401	0,01272792	3,17%
5	-	-	0,159	0,161	0,16	0,00141421	0,88%
6	-	-	0,068	0,07	0,069	0,00141421	2,05%
7	-	-	0,23	0,195	0,2125	0,02474874	11,65%
8	-	-	0,286	0,254	0,27	0,02262742	8,38%
9	-	-	0,061	0,059	0,06	0,00141421	2,36%
10	-	-	0,169	0,171	0,17	0,00141421	0,83%

## → IgG (-) :

➤ Tableau 14 : données de Répétabilité pour les échantillons CLIA IgG (-)

N°ECH	SERIE 1	SERIE 2	INDEX VAL 1	INDEX VAL 2	Moyenne	Ecart type	CV%
1	-	-	0,7	0,72	0,71	0,01414214	1,99%
2	-	-	7,54	7,29	7,415	0,1767767	2,38%
3	-	-	0,712	0,74	0,726	0,01979899	2,73%
4	-	-	2,11	2,04	2,075	0,04949748	2,39%
5	-	-	20,5	21,4	20,95	0,6363961	3,04%
6	-	-	8,64	8,08	8,36	0,3959798	4,74%
7	-	-	3,72	3,5	3,61	0,15556349	4,31%
8	-	-	22,4	23,5	22,95	0,77781746	3,39%
9	-	-	16,2	15,9	16,05	0,21213203	1,32%
10	-	-	1,9	2,06	1,98	0,11313709	5,71%
11	-	-	1,96	2,19	2,075	0,16263456	7,84%
12	-	-	3,81	4,19	4	0,26870058	6,72%
13	-	-	21,6	22,6	22,1	0,70710678	3,20%
14	-	-	6,38	5,96	6,17	0,29698485	4,81%
15	-	-	0,32	0,328	0,324	0,00565685	1,75%
16	-	-	34,8	34,6	34,7	0,14142136	0,41%
17	-	-	0,445	0,441	0,443	0,00282843	0,64%
18	-	-	0,392	0,391	0,3915	0,00070711	0,18%
19	-	-	0,159	0,152	0,1555	0,00494975	3,18%
20	-	-	0,286	0,282	0,284	0,00282843	1,00%
21	-	-	0,061	0,06	0,0605	0,00070711	1,17%
22	-	-	0,169	0,156	0,1625	0,00919239	5,66%

### 3. Reproductibilité pour les échantillons CLIA :

a. Reproductibilité pour les échantillons (CLIA) positifs :

Les résultats des tests de reproductibilité pour les échantillons CLIA positifs sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

➔ IgM (+) :

➤ tableau 15 : données de reproductibilité pour les échantillons CLIA IgM (+)

SERIE1	SERIE 2	INDEX VAL1	INDEXVAL2	MOYENNE	Ecart type	CV%
+	+	3,36	3,25	3,305	0,07778175	2,35%
+	+	13,4	13,01	13,205	0,27577165	2,09%
+	+	1,3	1,35	1,325	0,03535534	2,67%
+	+	2,72	2,85	2,785	0,09192388	3,30%
+	+	13,4	12,99	13,195	0,28991378	2,20%
+	+	19,9	20,02	19,96	0,08485281	0,43%
+	+	4,13	4,05	4,09	0,05656854	1,38%
+	+	2,24	2,23	2,235	0,00707107	0,32%
+	+	15,5	15,32	15,41	0,12727922	0,83%
+	+	4,74	4,7	4,72	0,02828427	0,60%
+	+	10,8	10,76	10,78	0,02828427	0,26%
+	+	6,34	6,32	6,33	0,01414214	0,22%
+	+	34,4	34,25	34,325	0,10606602	0,31%
+	+	6,96	7,01	6,985	0,03535534	0,51%
+	+	2,69	2,59	2,64	0,07071068	2,68%
+	+	3,98	4,01	3,995	0,0212132	0,53%
+	+	4,88	4,89	4,885	0,00707107	0,14%
+	+	10,7	11,01	10,855	0,2192031	2,02%
+	+	1,3	1,32	1,31	0,01414214	1,08%
+	+	3,69	3,62	3,655	0,04949748	1,35%
+	+	1,48	1,45	1,465	0,0212132	1,45%

==> Les coefficients de variation (CV) obtenus sur les échantillons IGM positifs sont inférieurs à 3,30% pour la reproductibilité.

→IgG(+) :

➤ Tableau 16 : données de reproductibilité pour les échantillons CLIA IgG (+)

SERIE1	SERIE 2	INDEX VAL1	INDEX VAL2	MOYENNE	Ecart type	CV%
+	+	24,23	24,05	24,14	0,12727922	0,53%
+	+	1,23	1,2	1,215	0,0212132	1,75%
+	+	9,25	9,22	9,235	0,0212132	0,23%
+	+	25,13	25,03	25,08	0,07071068	0,28%
+	+	36,25	26,89	31,57	6,61851947	20,96%
+	+	7,09	7,25	7,17	0,11313709	1,58%
+	+	22,25	22,32	22,285	0,04949748	0,22%
+	+	24,36	24,32	24,34	0,02828427	0,12%
+	+	32,21	33	32,605	0,55861436	1,71%
+	+	12,23	12,5	12,365	0,19091883	1,54%
+	+	4,752	4,756	4,754	0,00282843	0,06%
+	+	25,563	25,321	25,442	0,17111984	0,67%

==>Les coefficients de variation (CV) obtenus sur les échantillons IGG positifs sont inférieurs à 1,75% pour la reproductibilité.

b. Reproductibilité pour les échantillons (CLIA) négatifs :

Les résultats des tests de reproductibilité pour les échantillons CLIA négatifs sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

## ➔ IgM (-) :

## ➤ Tableau 17 : données de reproductibilité pour les échantillons CLIA IgM (-)

SERIE1	SERIE 2	INDEX VAL1	INDEX VAL2	MOYENNE	Ecart type	CV%
-	-	0,286	0,254	0,27	0,02262742	8,38%
-	-	0,271	0,269	0,27	0,00141421	0,52%
-	-	0,45	0,39	0,42	0,04242641	10,10%
-	-	0,232	0,223	0,2275	0,00636396	2,80%
-	-	0,088	0,079	0,0835	0,00636396	7,62%
-	-	0,194	0,195	0,1945	0,00070711	0,36%
-	-	0,114	0,111	0,1125	0,00212132	1,89%
-	-	0,546	0,551	0,5485	0,00353553	0,64%
-	-	0,088	0,091	0,0895	0,00212132	2,37%
-	-	0,194	0,192	0,193	0,00141421	0,73%
-	-	0,114	0,111	0,1125	0,00212132	1,89%
-	-	0,546	0,539	0,5425	0,00494975	0,91%
-	-	0,134	0,132	0,133	0,00141421	1,06%
-	-	0,125	0,122	0,1235	0,00212132	1,72%
-	-	0,8	0,79	0,795	0,00707107	0,89%
-	-	0,52	0,49	0,505	0,0212132	4,20%
-	-	0,156	0,151	0,1535	0,00353553	2,30%
-	-	0,224	0,222	0,223	0,00141421	0,63%
-	-	0,43	0,41	0,42	0,01414214	3,37%
-	-	0,02	0,03	0,025	0,00707107	28,28%
-	-	0,223	0,221	0,222	0,00141421	0,64%

## → IgG (-) :

## ➤ Tableau 18 : données de reproductibilité pour les échantillons CLIA IgG (-)

SERIE1	SERIE 2	INDEX VAL1	INDEX VAL2	MOYENNE	Ecart type	CV%
-	-	0,245	0,241	0,243	0,00282843	1,16%
-	-	0,07	0,08	0,075	0,00707107	9,43%
-	-	0,45	0,42	0,435	0,0212132	4,88%
-	-	0,025	0,022	0,0235	0,00212132	9,03%
-	-	0,232	0,231	0,2315	0,00070711	0,31%
-	-	0,088	0,086	0,087	0,00141421	1,63%
-	-	0,194	0,191	0,1925	0,00212132	1,10%
-	-	0,114	0,112	0,113	0,00141421	1,25%
-	-	0,546	0,541	0,5435	0,00353553	0,65%
-	-	0,088	0,086	0,087	0,00141421	1,63%
-	-	0,54	0,511	0,5255	0,0205061	3,90%
-	-	0,12	0,09	0,105	0,0212132	20,20%
-	-	0,12	0,09	0,105	0,0212132	20,20%
-	-	0,1	0,12	0,11	0,01414214	12,86%
-	-	0,2	0,21	0,205	0,00707107	3,45%
-	-	0,6	0,62	0,61	0,01414214	2,32%
-	-	0,71	0,76	0,735	0,03535534	4,81%
-	-	0,135	0,132	0,1335	0,00212132	1,59%
-	-	0,202	0,199	0,2005	0,00212132	1,06%
-	-	0,32	0,31	0,315	0,00707107	2,24%
-	-	0,21	0,22	0,215	0,00707107	3,28%
-	-	0,123	0,125	0,124	0,00141421	1,14%
-	-	0,12	0,14	0,13	0,01414214	10,88%
-	-	0,321	0,332	0,3265	0,00777818	2,38%
-	-	0,521	0,499	0,51	0,01555635	3,05%
-	-	0,0125	0,0129	0,0127	0,00028284	2,23%
-	-	0,0456	0,0468	0,0462	0,00084853	1,84%
-	-	0,012	0,019	0,0155	0,00494975	31,93%
-	-	0,712	0,742	0,727	0,0212132	2,92%
-	-	0,0125	0,0121	0,0123	0,00028284	2,30%

==> Les coefficients de variation (CV) obtenus sur les échantillons IGM négatifs sont inférieurs à 10,88% pour la reproductibilité.

#### 4 . Spécificité du test chimiluminescence

Un total de 14 échantillons de la sérothèque du laboratoire d'immuno-sérologie de la même formation a été analysé. Ces échantillons appartenant à des donneurs de sang en période avant Covid-19 (novembre 2019). Ils se sont tous révélés négatifs.

Tableau 19 : résultats des échantillons cas témoins pour le test (CLIA)

N° ECH	TYPE ECH	IDENTIF	Délai entre symptômes et prélèvement	RESULT PCR	RESULTATS CLIA ABBOTT
83	PLASMA	SEROT1	ANTE COVID	ANTE COVID	-
84	PLASMA	SEROT2	ANTE COVID	ANTE COVID	-
85	PLASMA	SEROT3	ANTE COVID	ANTE COVID	-
86	PLASMA	SEROT4	ANTE COVID	ANTE COVID	-
87	PLASMA	SEROT5	ANTE COVID	ANTE COVID	-
88	PLASMA	SEROT6	ANTE COVID	ANTE COVID	-
89	PLASMA	SEROT7	ANTE COVID	ANTE COVID	-
90	PLASMA	SEROT8	ANTE COVID	ANTE COVID	-
91	PLASMA	SEROT9	ANTE COVID	ANTE COVID	-
92	PLASMA	SEROT10	ANTE COVID	ANTE COVID	-
93	PLASMA	SEROT11	ANTE COVID	ANTE COVID	-
94	PLASMA	SEROT12	ANTE COVID	ANTE COVID	-
95	PLASMA	SEROT13	ANTE COVID	ANTE COVID	-
96	PLASMA	SEROT14	ANTE COVID	ANTE COVID	-

➔ Aucun faux positif n'a été observé : la spécificité est 100%.

## 5. Sensibilité du test chimiluminescence :

Un total de 82 échantillons sanguins des malades démontrés Sars-Cov-2 positifs par RT-PCR temps réel sur Architect abbott 1000i à l'aide du réactif SARS-CoV2 IgG II Quant Reagent Abbott® ; avec un délai entre l'apparition des symptômes et le prélèvement sanguin compris entre 1 et 30 jours.

### a. sensibilité du CLIA (IgM )

- Le tableau ci-dessous indique le moment où le premier résultat à IGM positif a été détecté pour chaque patient selon le délai entre l'apparition des symptômes et le prélèvement de l'échantillon :

➤ Tableau 20 : pourcentage de positivité (IgM) pour le test CLIA selon le délai entre l'apparition des symptômes et prélèvement d'échantillon

Délai entre symptômes et prélèvement	+	-	TOTAL	POSITIVITE %
1 – 7 JOURS	3	19	22	13,63
8 – 14 JOURS	30	4	34	88,23
≥ 15 J	21	5	26	80,76
Total	54	28	82	

➔ La sensibilité est de 88,23% quand le délai entre l'apparition des symptômes et le prélèvement sanguin est compris entre (8-14) -ème jours.

➔ à partir de 15 jours la sensibilité diminue légèrement avec un pourcentage de 80,76 %.

**b. sensibilité CLIA IgG**

- Le tableau ci-dessous indique le moment où le premier résultat à IGG positif a été détecté pour chaque patient selon le délai entre l'apparition des symptômes et le prélèvement de l'échantillon :

➤ Tableau 21 : pourcentage de positivité (IgG) pour le test CLIA selon le délai entre l'apparition des symptômes et prélèvement d'échantillon

Délai entre symptômes et prélèvement	+	-	TOTAL	POSITIVITE %
1 – 7 JOURS	1	21	22	4,54
8 – 14 JOURS	8	26	34	23,53
≥15 J	23	3	26	88,46
TOTAL	32	50	82	

➔ La sensibilité est de 88,46% quand le délai entre l'apparition des symptômes et le prélèvement sanguin est supérieur ou égal à 15 jours.

# DISCUSSION

## A. Historique :

### 1) Coronavirus [4]

Les coronavirus (CoV) infectent l'humain et de nombreuses espèces animales (mammifères et oiseaux). Les 1ers CoV ont été décrits chez les animaux et n'ont pas reçu l'appellation «coronavirus», que tardivement dans le 1er rapport de l'ICTV en 1971 : description de CoV chez le poulet en 1937 (anciennement IBV, infectious bronchitis virus, maintenant appelé avian coronavirus), le porc en 1946 (anciennement TGEV, transmissible gastro-enteritis virus, maintenant appelé alphacoronavirus 1), et la souris en 1949 (anciennement MHV, murine hepatitis virus, maintenant appelé murine coronavirus).

Chez l'humain, les 1ers CoV ont été isolés en culture cellulaire dans les années 1960, à partir de sécrétions respiratoires d'individus présentant une infection respiratoire aiguë. Parmi les 1ers isolats de coronavirus humains (HCoV), les souches 229E, B814, OC43, OC48 et 692 . Seuls deux d'entre eux (appartenant aux espèces Human coronavirus 229E et Human coronavirus OC43), isolés en 1965, ont été adaptés à des cultures cellulaires adhérentes et ont constitué, pendant plus de 40 ans, les 2 seules souches prototypes des HCoV. De 1967 à 2004, les HCoV ont été négligés en médecine humaine et n'étaient pas recherchés dans les laboratoires de diagnostic virologique.

Les premières connaissances sur la biologie de ces virus ont été acquises à partir de l'étude des CoV animaux IBV, TGEV et MHV.

L'identification en mars 2003 du coronavirus associé au SARS-COV(severe acute respiratory syndrome-related coronavirus) comme agent responsable chez l'humain de la 1ère pandémie infectieuse du XXIe siècle a suscité d'abord une

grande surprise, puis un important regain d'intérêt pour ces virus. L'identification des HCoV-NL63 et HCoVHKU1, respectivement aux Pays-Bas en 2004 (NL pour Netherlands) et à Hong Kong en 2005 (HKU pour Hong Kong university), a montré qu'ils étaient ubiquitaires et cocirculaient avec les HCoV-229E et HCoV-OC43. Enfin, l'émergence du coronavirus associé au syndrome respiratoire du Moyen-Orient (Middle-East respiratory syndrome-related coronavirus, MERS-CoV) en Arabie Saoudite en 2012, responsable d'un syndrome respiratoire sévère, confirme encore le haut potentiel d'émergence de ces virus. Ce dernier, après avoir reçu plusieurs dénominations, a été appelé MERS-CoV car il ne circule quasi exclusivement que dans la péninsule arabique.

## 2) Covid-19 :

En décembre 2019, Les structures sanitaires de la ville de Wuhan en Chine déclarent des cas de patients présentant une symptomatologie respiratoire d'allure virale. La majorité d'entre eux a déjà visité le marché de fruits de mer de Wuhan quelques semaines avant le début de la symptomatologie, ce marché est considéré donc comme étant la source de l'épidémie.[5]

L'étude des prélèvements respiratoires des patients atteints a permis d'identifier une nouvelle souche de la famille de coronaviridae appelée initialement 2019 new Corona-Virus. Ce virus est renommé par l'OMS SARS-CoV-2 en raison de sa proximité du SARS-CoV responsable de l'épidémie de SARS en 2003. La maladie résultante du virus de SARS-CoV-2 est appelée COVID19 ( Coronavirus disease 2019 ). [5]

Le 11 Janvier 2020, la Chine a déclaré le premier cas de décès suite au virus de SARS-CoV2 dans un tableau de détresse respiratoire aigue. Des cas de COVID-19 sont, par la suite, rapportés chez des sujets n'ayant jamais fréquenté le marché de

Wuhan, mais ayant été en contact avec les patients infectés objectivant une transmission interhumaine.[5]

En fin janvier 2020, la ville de Wuhan est mise en quarantaine et l’OMS déclare que l’épidémie de COVID-19 constitue une urgence sanitaire de portée internationale.[5]

Suite à l’extension rapide du virus de SARS-CoV-2 à travers le monde et l’augmentation de nombre de cas et de décès dans plusieurs pays. L’OMS a annoncé le 11 Mars 2020 que la maladie de COVID-19 est devenue une pandémie mondiale.[6]

## **B. Epidémiologie :**

### **1. la distribution géographique /situation au Maroc :**

A la fin de l’année 2019, le SARS-CoV-2 a causé un groupe de cas de pneumonie à Wuhan, une ville chinoise, dans la province chinoise de Hubei.

Le 30 janvier, l’épidémie a été déclarée comme urgence de santé publique de portée internationale (USPPI) par l’Organisation mondiale de la santé (OMS) et plus tard déclarée comme pandémie mondiale.

La maladie progressivement saisie le monde entier ; l’épicentre de pandémie a changé plus tard de la ville de Wuhan vers l’Europe et l’USA, et qui sont les pays les plus durement touchés par l’épidémie.

En 14 octobre 2021, l’OMS a rapportée que le total mondial des nouveaux cas et des décès jusqu’à ce jour est de 239 007 759 cas positif dont 4 871 841 personnes sont décédés, un total de 6 471 051 151 doses de vaccin ont été administrées. [73]

La plupart des cas de COVID-19 et des décès dus à cette maladie surviennent en Amérique suivi par l'Europe puis l'Asie du Sud-Est. [73]

Aux états unis, le premier cas a été identifié en Amérique du Nord remonte au 22 janvier 2020 ; depuis la propagation s'est accélérée et jusqu'à maintenant, 91 747 642 personnes ont contracté le virus et 2 250 807 personnes sont décédées. [73]

Le 24 janvier 2020, l'Europe identifie trois premier cas. Il s'agit de trois Français ayant séjourné à Wuhan ; depuis le s'est propagé dans une majorité des pays du continent européen eu 72 636 914 cas confirmés et 1 371 171 décès dont la France est le pays qui recense le plus de cas et de décès suivi par l'Espagne et l'Italie. [73]

Toutefois, l'Afrique représentait un pourcentage de 2.35 % soit 6 097 462 cas confirmé positif et 148 662 cas décédés. [73]

La distribution actuelle du covid 19 dans le monde est montrée dans la figure (16) .

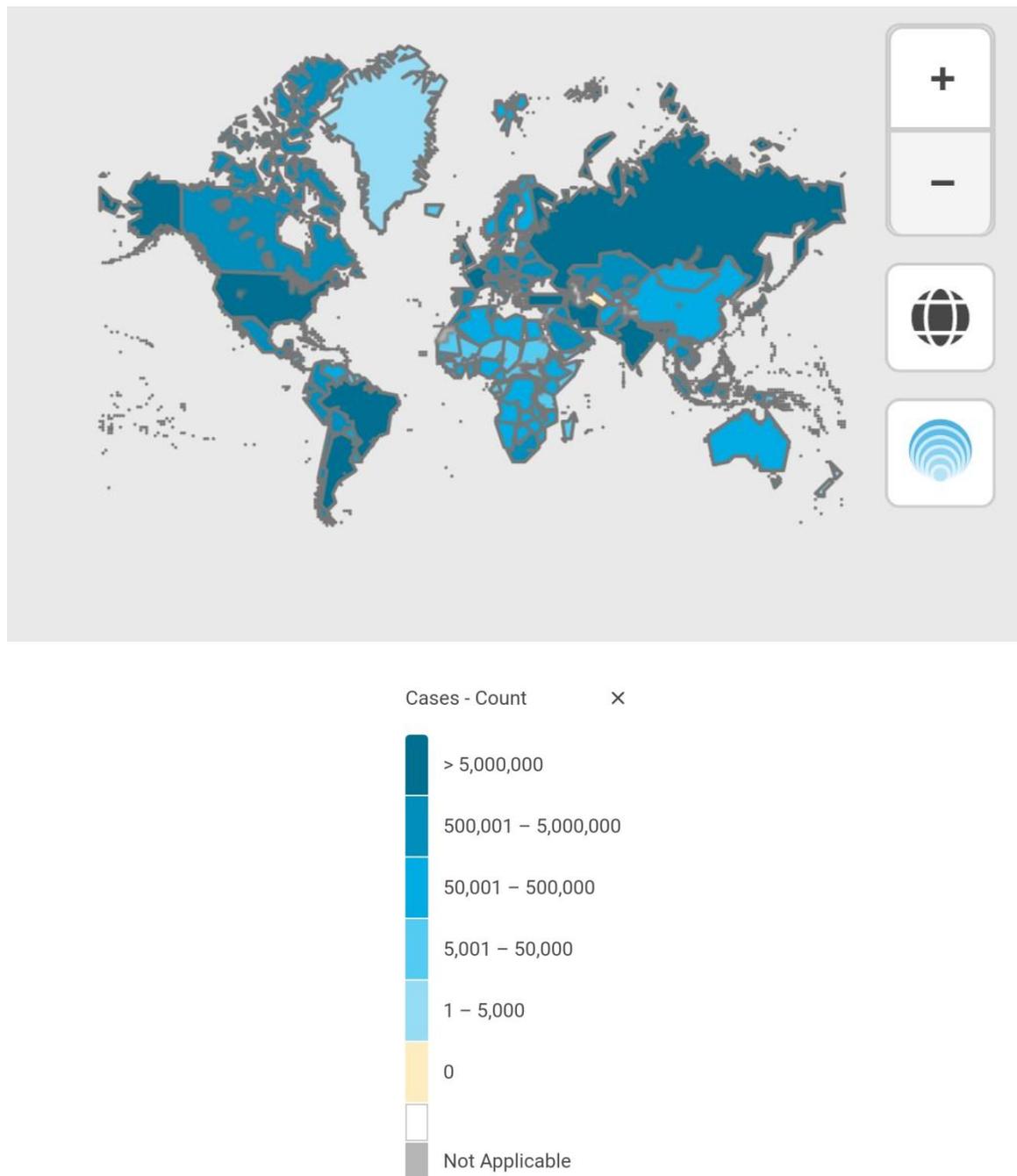


figure 5 : Répartition mondiale du covid-19 en 2021 [73]

➤ la situation nationale : [74]

Le Maroc a enregistré son premier cas de COVID-19, le 02 mars 2020. Les autorités marocaines ont décrété l'état d'urgence sanitaire le 20 mars alors que le pays ne comptait qu'une dizaine de cas. Depuis, la pandémie a suivi une évolution tendancielle maîtrisée, avec un taux de croissance quotidien moyen de l'ordre de 5,5%, une faible prévalence moins de 1% et un taux de létalité moyen de 4% pendant la période de confinement.

Après trois mois d'un confinement strict, les indicateurs épidémiologiques ont favorisé un déconfinement progressif par zone à partir du 10 juin 2020. Selon les données publiées par le Ministère de Santé, le nombre d'infections s'est établi, à la veille du déconfinement, à 8508 cas confirmés de coronavirus, dont 732 cas actifs et 211 décès. Le taux de létalité a atteint 2,48% et le nombre des rétablis a poursuivi son amélioration, s'établissant à 89% des cas affectés. Ces tendances ont été favorisées par une stratégie sanitaire et sécuritaire visant à contraindre l'évolution de l'épidémie et maintenir un fonctionnement continu du dispositif sanitaire. Après le déconfinement, la situation pandémique a évolué rapidement avec l'apparition d'un ensemble de clusters industriels et familiaux, qui ont augmentés le taux d'incidence et induit une hausse du nombre de cas cumulés depuis le début de la crise jusqu'au 30 juin à 12533 cas confirmés.

Jusqu'au 26 juillet 2020, le Maroc a enregistré 25 537 cas actifs dont 382 décès.

Selon les estimations, le nombre incidents du covid 19 au Maroc jusqu'à ce jour était de 940 503 cas positifs et 14 500 décès. figure(17)

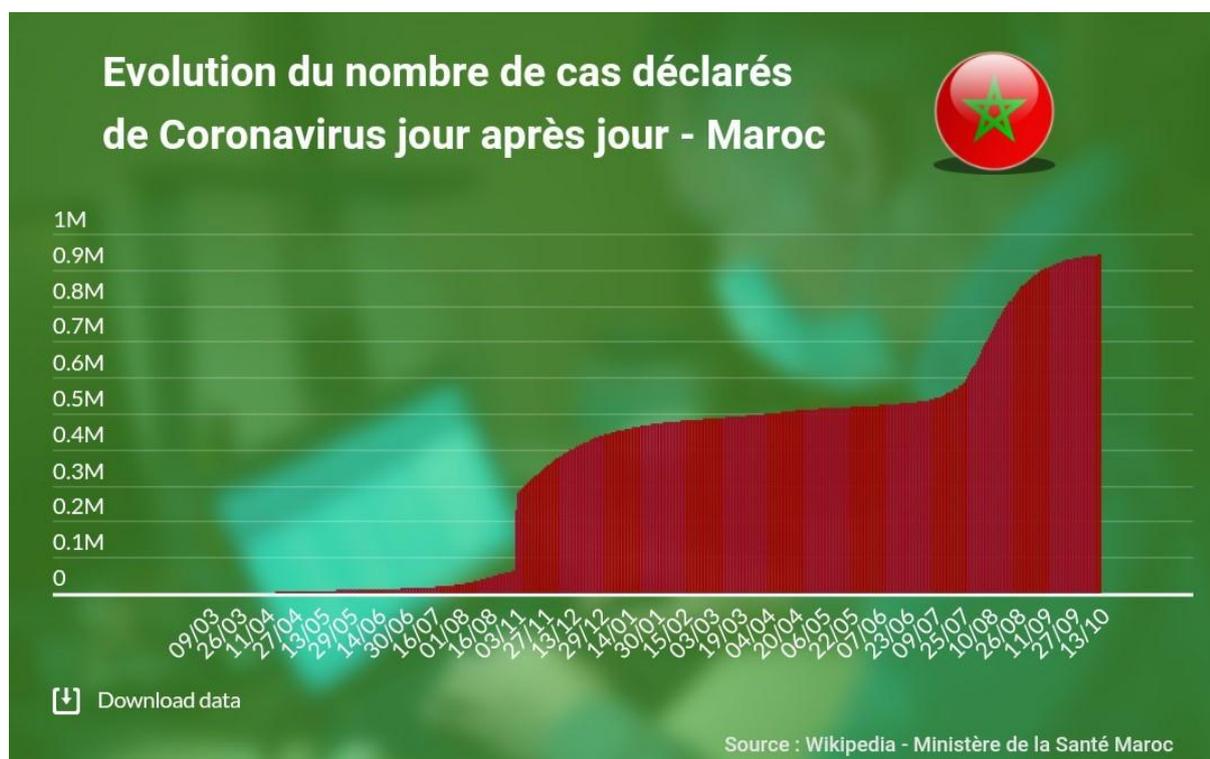


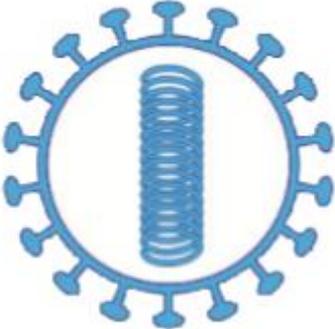
Figure 6 : nombre de cas de covid-19 au maroc de l'année 2021[75]

## 2. L'agent pathogène :

(Classification /structure /génomé )

### a. Classification [4]

- Tableau 22 : le schéma taxonomique de SARS-CoV-2

Le SARS-CoV-2	
<b>Ordre :</b> Nidovirales	
<b>Famille :</b> Coronaviridae	
<b>Sous-famille :</b> Orthocoronavirinae	
<b>Genre :</b> Betacoronavirus	
<b>Sous genre :</b> Sarbecovirus	
<b>type :</b> SARS-CoV2	
<b>Génomé :</b> ARN monocaténaire linéaire de polarité positive ; 27 à 32 Kb	<b>Taille :</b> 80 à 200 nm

- La famille des Coronaviridae comprend deux sous-familles, les Coronavirinae et les Torovirinae. Les Coronavirinae sont divisés en quatre genres, appelés Alpha-, Beta-, Gamma- et Deltacoronavirus. Le genre Betacoronavirus est lui-même subdivisé en quatre clades (A, B, C et D). Les coronavirus humains (HCoV) répertoriés en 2020 appartiennent aux Alpha- et aux Betacoronavirus.

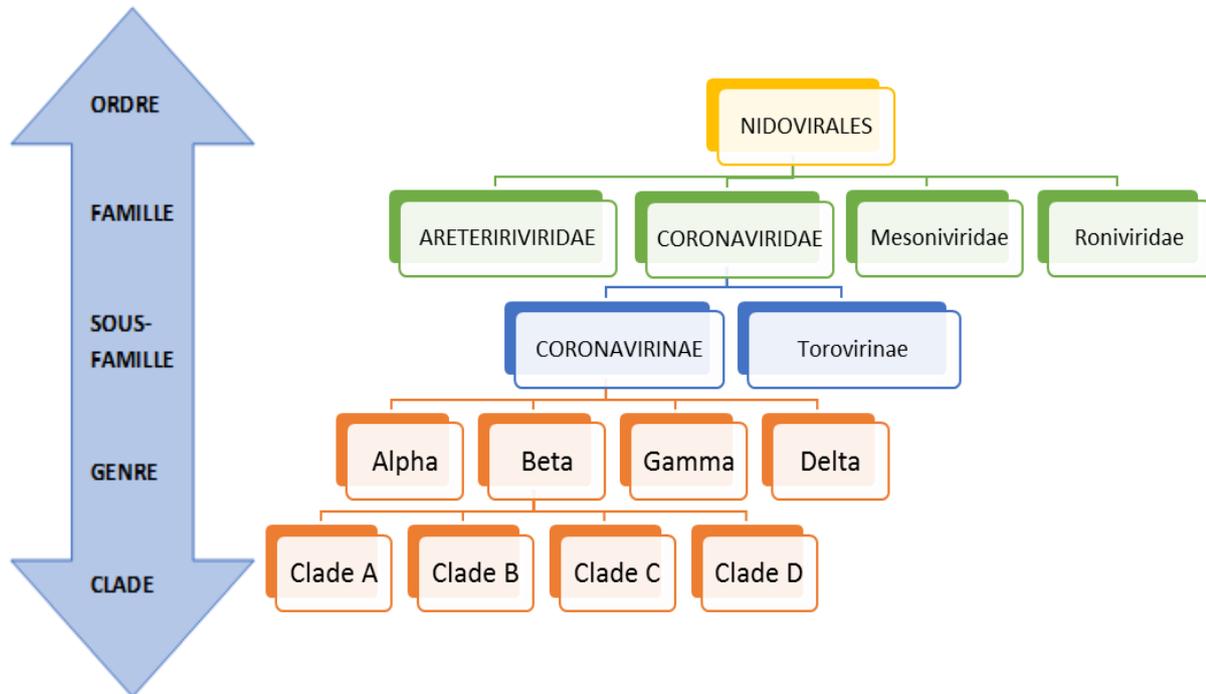


Figure 7 : Classification et taxonomie des coronavirus humains (HCoV). [4]

Classification des HCoV selon l'ICTV en 2017.

Les coronaviridae sont actuellement les seuls virus de l'ordre des Nidovirales identifiés comme infectant l'humain.

b. Structure :

Le virus du SARS-CoV-2 est un virus enveloppé à ARN positif, le virion possède une capsidie icosaédrique à symétrie cubique et un diamètre de 65 à 125 nm.[7,8],

→ Protéines structurales :

❖ Protéine S (Spike) :

Il s'agit d'une glycoprotéine transmembranaire possédant la forme de spicule à la surface du virus, dont le poids moléculaire est de 150 kD.[9]

Elle est constituée de 3 chaînes peptidiques identiques faite chacune de 1273 acides aminés.[9]

Cette protéine est composée de 2 sous unités : S1 et S2, cette dernière permet la liaison avec les récepteurs des cellules cibles, et la fusion entre la membrane virale et la membrane cellulaire. [9]

❖ Protéine N : (Nucleocapsid)

Située à l'intérieur de la capsid, elle entoure l'ARN pour former la nucléocapside qui joue un rôle primordial dans la réplication et la transcription.[9]

❖ Protéine M : (Membrane)

La protéine M est la plus abondante sur la surface virale. Elle joue un rôle structural et dans l'organisation de l'assemblage.

Elle peut se lier aux autres protéines structurales : Liaison avec la protéine N permet de stabiliser le complexe ARN-protéine N.[7]

❖ Protéine E : (Envelop)

C'est une petite protéine membranaire d'environ 76 à 109 acides aminés. Elle a un rôle dans l'assemblage et dans la perméabilité membranaire de la cellule hôte.[10]

➔ Protéines non structurales : Les protéines non structurales ont un rôle important dans la synthèse du complexe de réplication-transcription (RTC) qui permet la multiplication du virus à l'intérieur des cellules cibles. Ces protéines ( RNA polymérase) sont codées par les trames de lecture ORF1a et ORF1b.[7]

➔ Protéines accessoires : Les protéines accessoires sont utilisées pour échapper à la réponse immunitaire. Par exemple le gène situé sur ORF3 peut inhiber la voie de signalisation de l'interféron et donc l'arrêt de l'inhibition de la réplication virale.[11]

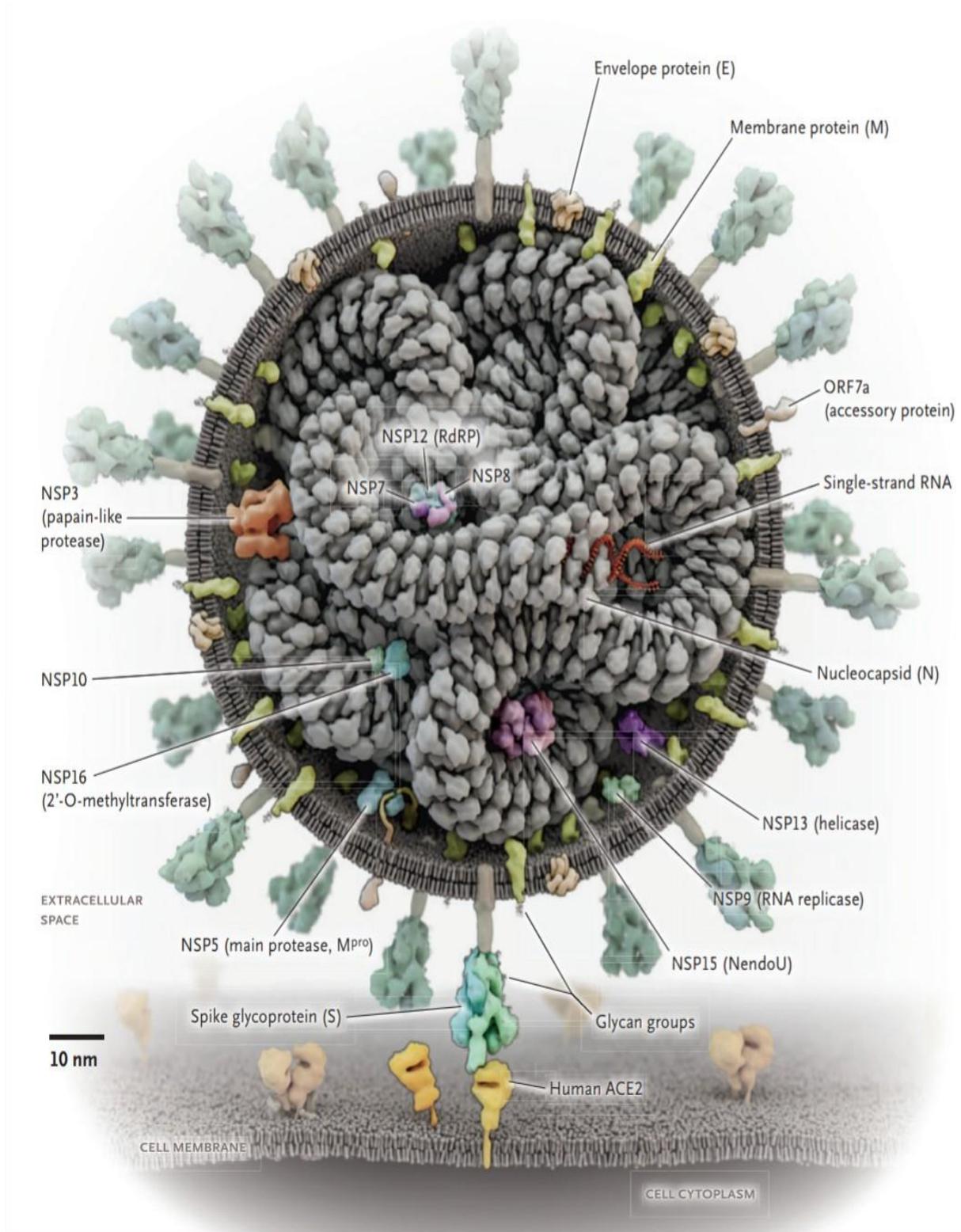


Figure 8 : Le virus SARS-CoV-2 et ses protéines. [12]

ACE2 : angiotensin-converting enzyme 2, NSP: nonstructural protein, ORF : open reading frame

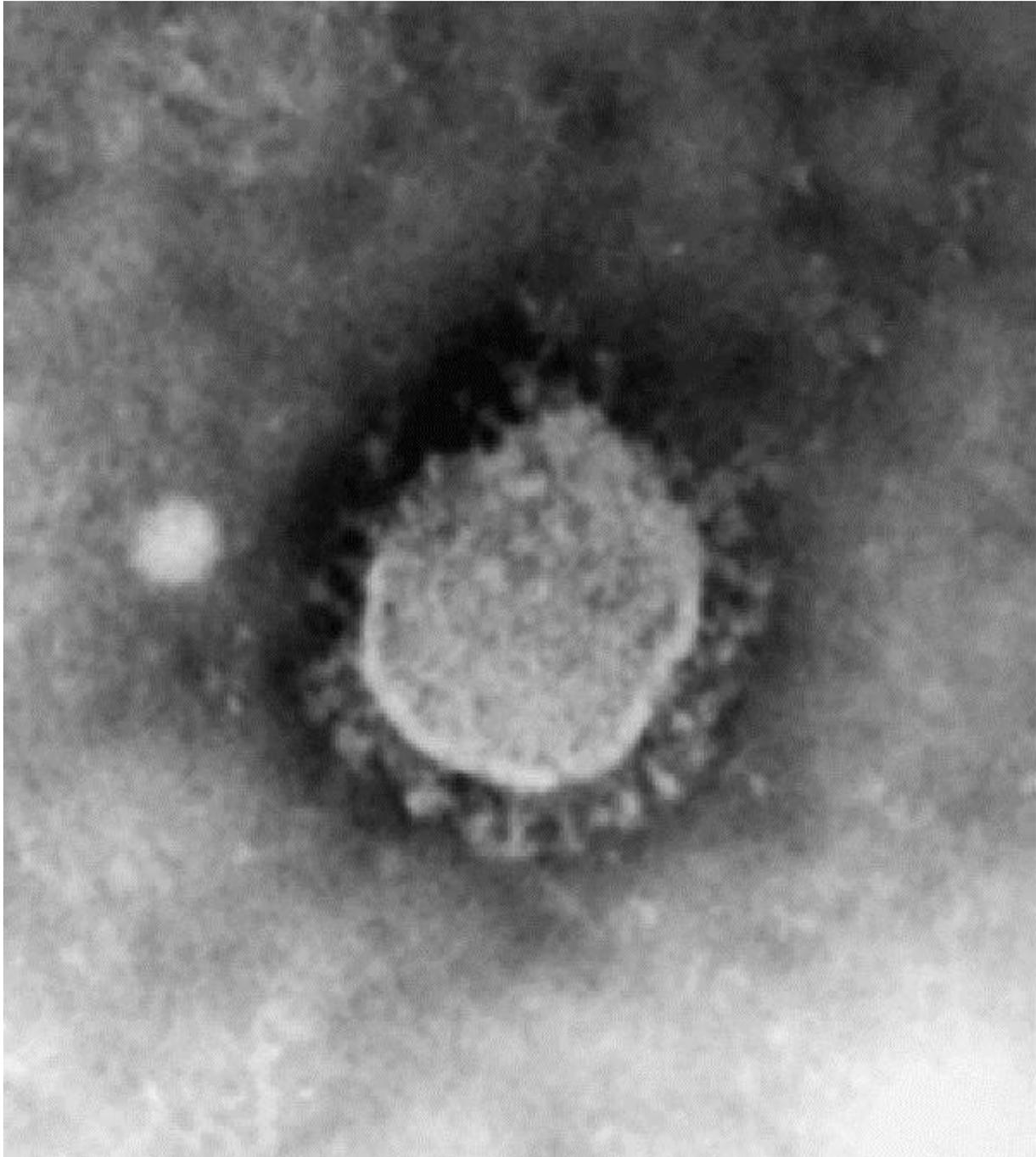


Figure 9 : Particule de coronavirus en microscopie électronique (Pierre Lebon, Saint-Vincent de Paul, Paris) [13]

c. Génome :

Le matériel génomique du SARS-CoV-2 est un acide ribonucléique (ARN) simple brin non segmenté à polarité positive . Sa taille est de 30 kilo bases (kb).[14]

Le génome viral comporte 14 trames de lecture ouvertes (Open Reading Frame (ORF)) qui codent pour 27 protéines : Les ORF1a et ORF1b codent pour 16 protéines non structurales (NSP1-NSP16), qui forment le complexe de répllication-transcription (RTC).Les protéines structurales sont codées par les gènes S, M, E et N.[7]

Le virus du SARS-CoV-2 présente une similarité génomique à d'autres virus de la famille de coronaviridae : [15,16]

- une proportion de 96.20% des séquences génomiques sont identiques à celles du Coronavirus des chauves-souris (bat-SL-CoVZC45, et bat-SL-CoVZXC21).
- 80.26% des séquences génomiques sont identiques au SARS-CoV.
- 51.80% des séquences génomiques sont identiques au MERS-CoV.

Un rapport présenté de manière informelle a montré que le SARS-CoV-2 présente quatre insertions dans le gène de la glycoprotéine S, qui sont identiques ou similaires aux motifs dans les régions hautement variables (V1, V4 et V5) au niveau la glycoprotéine de l'enveloppe ou dans la protéine Gag de certaines souches du VIH-1 de trois pays différents (Thaïlande, Kenya et Inde). Cette étude implique que le SARS-CoV-2 pourrait être généré en obtenant des fragments des gènes du VIH-1.[17]Plusieurs chercheurs ont étudié les séquences du SARS-CoV-2, et du VIH-1, ils n'ont démontré aucune preuve que les séquences de ces quatre insertions soient spécifiques du VIH-1 ou que le virus du SARS-CoV-2 a obtenu ces insertions à partir du VIH-1.[18]

### **3. Phase d'incubation : [19]**

C'est l'intervalle entre la date d'un premier contact potentiel avec un patient suspect ou confirmé Covid-19 et la date d'apparition des signes cliniques .

Le délai d'incubation de la COVID-19 est de 3 à 5 jours en général, il peut toutefois s'étendre jusqu'à 14 jours. Pendant cette période, le sujet peut être contagieux : il peut être porteur du virus avant l'apparition des symptômes.

#### **4. Contagiosité : [20]**

Le potentiel de contagiosité d'un agent infectieux peut s'évaluer par un indicateur appelé  $R_0$  (ou taux de reproduction ou R effectif), correspondant au nombre moyen d'infections secondaires pouvant être générées à partir d'un cas index, dans une population entièrement susceptible d'être infectée, c'est-à-dire qui n'a pas été immunisée contre l'agent infectieux.

Lors du premier mois de l'épidémie en Chine, l'OMS avait estimé le  $R_0$  à 2,6 (1,5-3,5). En mars 2020, une méta-analyse montrait que ce  $R_0$  était probablement supérieur, estimé à 3,3 (médiane de 2,8 avec un intervalle interquartile à 1-2).

La pratique répétée de la reverse-transcriptase polymérase-chain-reaction (RT-PCR) sur prélèvements nasopharyngé a montré que la charge virale était plus élevée lors des premiers jours de symptômes et qu'elle diminuait jusqu'au 11<sup>ème</sup> jour. La durée de positivité de la RT-PCR pouvait s'étendre jusqu'à 25 jours après l'apparition des premiers symptômes et dépassait 20 jours chez un tiers des patients selon une étude chinoise. Ces études suggèrent que la contagiosité est probablement plus importante lors des premiers jours de symptômes et qu'elle pourrait persister plus de trois semaines.

Cependant, ces résultats doivent être pondérés, un résultat positif de RT-PCR ne signifiant pas nécessairement que le virus est vivant et qu'il est infectieux. Des cultures virales sont pour cela indispensables.



## 5. Modes de transmission :

### a) Réservoir animal :

Les chiroptères ou chauves-souris , chez qui l'infection est asymptomatique et bien tolérée, constituent le principal réservoir animal des Coronavirus. La coexistence de plusieurs espèces de Coronavirus chez ces mammifères favorise l'émergence de nouveaux virus par recombinaison.[21,22]

### b) Hôte intermédiaire :

Les pangolins sont considérés comme l'hôte intermédiaire le plus probable dans l'infection au SARS-CoV-2. Ils étaient vendus dans le marché aux poissons de Hunan, et c'est de là que vient probablement la contamination humaine.[5]

Une étude publiée dans la revue « Nature » a objectivé qu'une souche de coronavirus nommée pangolin-CoV, isolée à partir d'un pangolin malais à 100%, 98,6%, 97,8% et 90,7% d'identité d'acides aminés avec le SARS-CoV-2 dans les protéines E, M, N et S, respectivement, en particulier, le domaine de liaison au récepteur de la protéine S du pangolin-CoV qui est presque identique à celui du SARS-CoV-2, avec une différence dans un seul acide aminé. L'analyse génomique comparative suggère que le SARS-CoV-2 pourrait provenir de la recombinaison d'un virus similaire au pangolin-CoV avec un virus similaire au RaTG13 (souche de coronavirus isolée chez les chiroptères).[23]

### c) Modes de transmission interhumaine :

Plusieurs modes de transmission interhumaine sont probables :

- ❖ Transmission par voie aérienne : Via des gouttelettes émises par les voies respiratoires des patients atteints, principalement lors de la toux et les éternuements.[24]

- ❖ Transmission par contact : Le contact de la muqueuse orale, nasale, et oculaire avec des surfaces contaminées est responsable d'une transmission virale.[25] La durée de vie du SARS-CoV-2 sur les différentes surfaces est variable.
- ❖ o Transmission féco-orale : L'ARN du SARS-CoV-2 a été détecté dans les selles de plusieurs patients, et a rendu cette voie de transmission possible.[26]
- ❖ Transmission par des aérosols : Cette voie est possible si exposition à une grande concentration d'aérosols pour une longue durée dans un espace fermé.[27]
- ❖ Transmission verticale : La transmission verticale du SARS-CoV-2 est possible, et semble se produire dans une minorité de cas d'infection maternelle à la COVID-19 au troisième trimestre (~ 3,2%). Ce taux faible de transmission verticale est dû probablement à la rareté au niveau du placenta des cellules présentant les récepteurs de l'ACE2 et TMPRSS2 nécessaires à l'entrée du virus. [28]

## **C. Physiopathologie :**

Le SARS-CoV-2, comme le SARS-CoV-1, utilise l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) comme récepteur cellulaire principal afin de pénétrer dans la cellule hôte [29]. Après une incubation de cinq jours environ, 70% des patients infectés développent une toux, de la fièvre, ou une dyspnée [30].

Cette phase d'invasion virale est suivie, chez certains patients, d'une réaction immunitaire inadaptée marquée par l'aggravation de la symptomatologie respiratoire, et du syndrome inflammatoire, en général huit à dix jours après les premiers symptômes [31].

Cette phase dysimmunitaire, parfois appelée orage cytokinique, peut être associée à une coagulopathie, l'ensemble correspondant, pour certains auteurs, à un sepsis viral [32].

Dans les sepsis bactériens, la réaction inflammatoire, délétère et responsable de dommages organiques, est particulièrement difficile à explorer [33], ce qui peut expliquer le nombre important de travaux concernant l'orage cytokinique dans la COVID-19.

### **1. Infection cellulaire et cycle de réplication :** (figure 10.C )

#### **a. Pénétration du virus dans la cellule hôte :**

La protéine S du SARS-CoV-2 utilise le récepteur cellulaire ACE2 – une métalloprotéase dont la fonction première est la dégradation de l'angiotensine II en angiotensine 1-7 – pour rentrer dans la cellule hôte [29,33].

Bien étudiée chez le SARS-CoV-1, la liaison de la sous unité S1 à ACE2 entraîne une modification conformationnelle de la protéine S, exposant S2 et permettant l'endocytose puis la fusion membranaire [34,35].

Cette fusion nécessite l'activation de S par le clivage au niveau de la jonction S1/S2 et d'un autre site de S2, notamment réalisée par la protéase membranaire TMPRSS2 (transmembrane protease serine 2) [36].

Dans le cas du SARS-CoV-2, l'ajout d'un site de clivage furine [37] permet un clivage des sous-unités S1/S2 dès la biosynthèse virale [38] et pourrait majorer le potentiel infectant du virus [39].

De façon intéressante, en dehors d'ACE2, le SARS-CoV-2 pourrait également utiliser d'autres récepteurs cellulaires de la protéine S pour infecter les cellules n'exprimant pas ACE2, ainsi que démontrée sur des lymphocytes T in vitro [40].

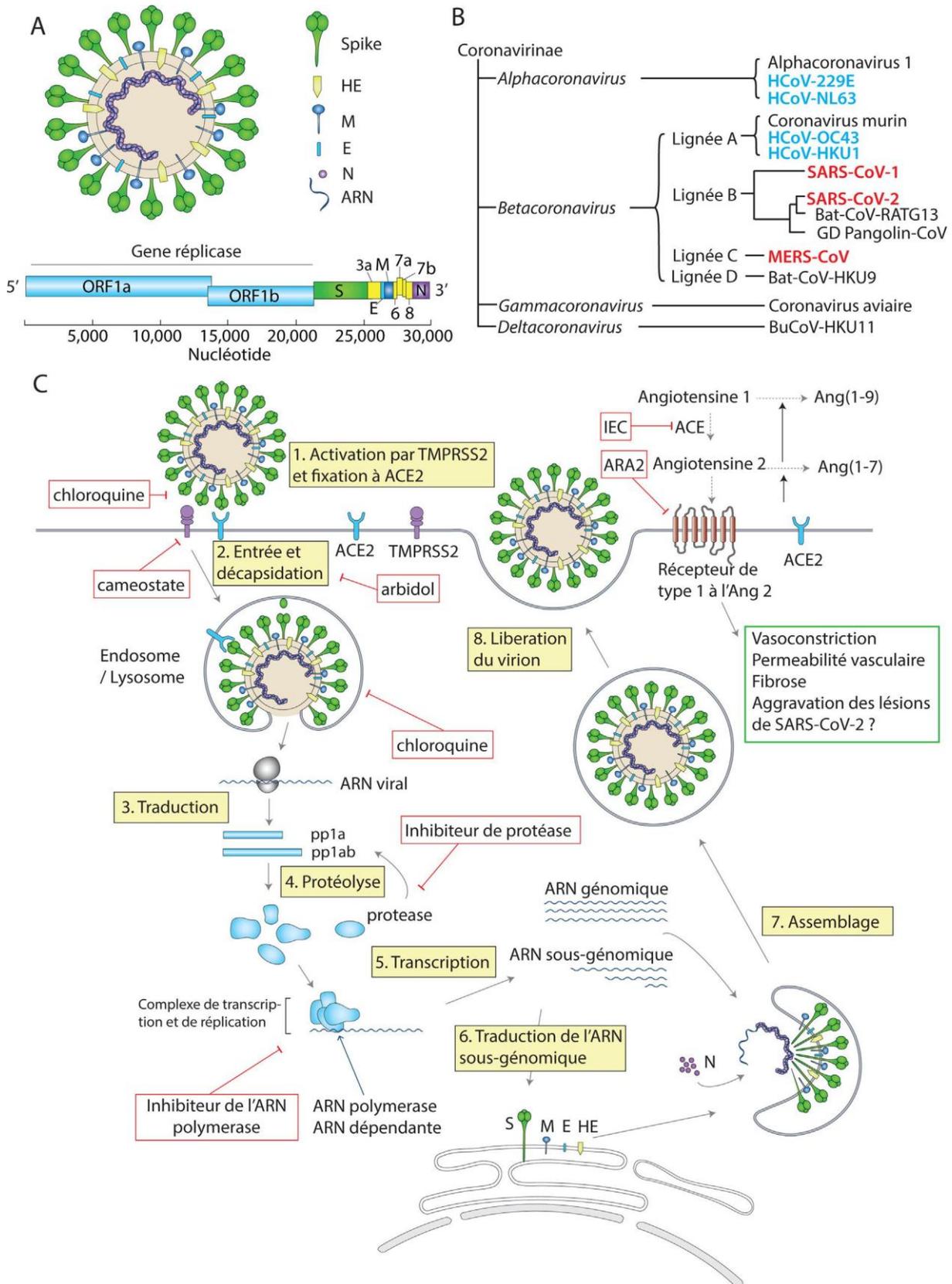


Figure 10 : Phylogénie, structure et réplication de SARS-COV 2 [41]

A : structure virale,

B : phylogénie simplifiée du corona virus humain,

C : représentation de l'entrée du SARS-COV 2 dans la cellule principalement le pneumocyte type 2 et de son cycle de réplication.

b. Cycle de réplication :

Le cycle de réplication des coronavirus a été largement étudié. Après la fusion et le largage de la nucléocapside dans le cytosol de la cellule hôte, la machinerie cellulaire traduit le gène de la réplicase en deux polyprotéines (pp1a et pp1ab) clivées en nombreuses protéines indispensables au cycle viral (notamment deux protéases virales et une ARN-polymerase ARN-dépendant) s'assemblant en un large complexe de transcription et de réplication [34,35].

Ce complexe permet d'une part de reproduire l'ARN viral et d'autre part, par le biais de la formation de petits brins d'ARN anti-sens appelés ARN sous-génomiques, la production de protéines de structure des nouveaux virions.

Finalement les brins d'ARN synthétisés sont combinés avec la protéine N pour former la nucléocapside et l'assemblage avec les glycoprotéines d'enveloppe permet le bourgeonnement de nouvelles particules virales [35].

La connaissance du cycle viral permet de déterminer les cibles thérapeutiques inhibant sa réplication.

## **2. Une réponse immunitaire :**

a. Réponse antivirale immédiate :

Les déterminants de la réponse immunitaire immédiate au SARS-CoV-2 ne sont pas encore connus, mais peuvent être extrapolés à partir des modèles d'infection virale.(figure 11)

L'infection des cellules épithéliales et immunitaires du tractus respiratoire génère plusieurs signaux de danger, reconnus par différents récepteurs (Pattern Recognition Receptors, ou PRRs) liant l'ARN viral (TLRs 3, 7, 8, RIG-1, MDA-5) ou des protéines de surface virales (TLR 2, TLR 4).

Ces récepteurs vont ensuite activer des facteurs de transcription (IRF-3, IRF-7, AP-1, NF- $\kappa$ B) [42].

Cette activation entraîne la sécrétion de cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6) entraînant une hyperperméabilité capillaire et l'attraction de cellules inflammatoires, et d'interférons de type I (IFN-1), qui promeuvent l'expression de gènes cibles (ISG, pour interferon-stimulated genes) [43].

Ces interférons vont promouvoir l'expression de gènes cibles (ISG pour interferonstimulated genes), par liaison à leur récepteur IFNAR, signalant par JAK/STAT [44]. La voie des interférons de type I est centrale dans la réponse antivirale initiale, et permet notamment d'inhiber la réplication virale, de protéger les cellules non-infectées et de stimuler l'immunité lymphocytaire antivirale (lymphocytes T CD8, cellules NK) conduisant à la lyse des cellules infectées [45].

L'activation des facteurs de transcription entraîne une sécrétion cytokinique initiale par les cellules infectées (interférons, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, chimiokines).

Les antigènes viraux sont internalisés par les cellules présentatrices d'antigène, apprêtés puis présentés via les complexes majeurs d'histocompatibilité de type 1 (pour l'ARN viral) et de type 2 (pour les protéines de surface) aux lymphocytes T CD4, CD8 et lymphocytes B, polarisés par la sécrétion cytokinique initiale, assurant l'instauration d'une immunité durable.

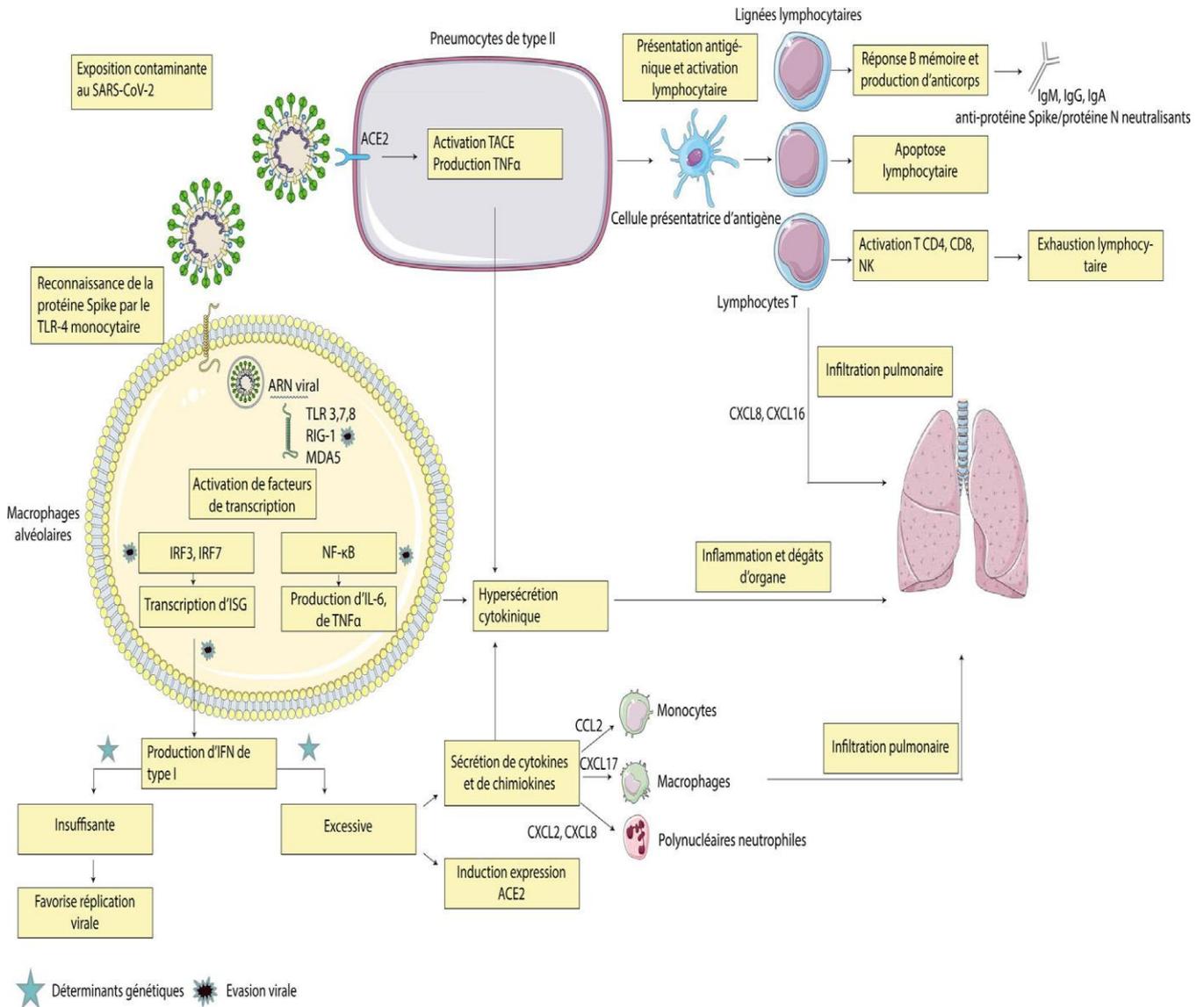


Figure 11 : mécanismes suspectés de la réaction immunitaire dans l'infection par le SARS-COV2 [41]

b. réponse humorale :

Selon l'article de Stephens et McElrath publié dans la revue de JAMA[46] , la réponse cellulaire est quasi immédiate avec l'activation des lymphocytes T CD4+, renforcée par les lymphocytes T CD8+ et atteindraient un pic dans les 2 semaines mais resteraient détectables à des niveaux inférieurs pendant 100 jours ou plus d'observation.

Les lymphocytes B vont se différencier soit en plasmocytes et produire les anticorps IgG et IgA dans 5 à 7 jours et les IgG dans 7 à 10 jours après l'apparition des symptômes soit en lymphocytes B mémoires.

Ainsi le pic d'IgM et IgA est atteint au 28ème jour. Le pic d'IgG est atteint à la septième semaine. A partir du quatrième mois, la concentration d'IgG devient faible.

Dans cette étude, l'infection COVID-19 pourrait conférer une immunité contre la réinfection, au moins temporairement.

Dans une étude réalisée dans le CHU de Strasbourg portant sur 162 patients atteints de formes légères de la COVID-19, montre que des anticorps neutralisants contre le SRAS-CoV-2 sont détectés 13 jours après le début des symptômes.

L'activité neutralisante des anticorps a augmenté au fil du temps. Les niveaux d'anticorps sont, dans la plupart des cas, compatibles avec une protection contre une nouvelle infection par Sars-CoV-2, au moins jusqu'à 40 jours après le début des signes[47].

Une réponse immunitaire dérégulée et syndrome de libération de cytokines, en raison d'une sur-activation de l'immunité innée dans le cadre de la lymphodéplétion des cellules T, caractérisent les présentations de COVID-19 sévère. [48]

Des études précliniques et humaines antérieures avec des coronavirus humains pathogènes ont proposé une répllication virale rapide, un antagonisme de la signalisation de l'interféron et une activation des neutrophiles et des monocytes-macrophages comme médiateurs de l'hyper inflammation. [48]

L'élévation des marqueurs inflammatoires sériques tels que la protéine C-réactive, la Ferritine, le taux de sédimentation érythrocytaire, le D-dimère, le fibrinogène et le lactate déshydrogénase est prédictive d'une maladie critique ultérieure et de la mortalité chez les patients atteints de COVID-19. Ces schémas d'anomalies biologiques ont été comparés dans la lymphohistiocytose hémophagocytaire secondaire (SAM), précédemment mis en évidence dans des échantillons pathologiques de patients décédés d'une infection par le SRAS-CoV.(48)

Des niveaux plus élevés de cytokine IL-6 dans le sérum ont également été associés à un pronostic plus défavorable et ont été trouvés en corrélation avec les niveaux de fibrinogène chez les patients atteints de COVID-19 . [48]

### **3. Dysrégulation de RAAS :** [48]

Les fonctions inadaptées du RAAS constituent un autre mécanisme physiopathologique plausible des lésions tissulaires liées à l'infection par le SRAS-CoV-2.

Le RAAS est composé d'une cascade de peptides régulateurs qui participent aux processus physiologiques clés du corps, y compris l'équilibre hydro-électrolytique, la régulation de la pression artérielle, la perméabilité vasculaire et la croissance tissulaire. L'ACE2, une amino-peptidase liée à la membrane des cellules épithéliales (récepteur du Sars Cov2) , est devenue un puissant contre-régulateur de la voie RAAS.

L'ACE2 clive l'angiotensine I en angiotensine 1-9 inactive et clive l'angiotensine II en angiotensine 1-7, qui possède des propriétés vasodilatatrices, antiprolifératives et antifibrosantes.

Bien que la physiopathologie du SRAS-CoV-2 ne se limite pas exclusivement aux voies liées à l'ACE2, ces résultats peuvent avoir des implications sur les manifestations cliniques extra-respiratoires du COVID-19.

#### **D. diagnostic du covid-19 :**

La covid 19 peut être asymptomatique ou symptomatique. Dans le cadre du covid asymptomatique, il repose sur la détection des antigènes viraux ou de l'ARN viral dans le prélèvement nasopharyngé avec absence de signes cliniques. Dans le cas du covid symptomatique, la gravité et l'évolution du covid dépend de l'âge du patient, son état d'immunité et de nutrition ainsi que son état général.

##### 1. Diagnostic clinique :

##### a. Histoire naturelle de la maladie :

L'infection par le SARS-CoV-2 semble évoluer en trois phases (figure 12). La phase d'incubation est suivie d'une phase symptomatique qui apparaît dans un délai médian de 5 jours après le contagement et qui concernerait 70 % des patients infectés. Une phase d'aggravation des symptômes respiratoires est possible et environ 3,4 % des patients développeraient un SDRA dans un délai médian de 8 jours après les premiers symptômes [49,50]. La mortalité liée au SDRA est élevée, autour de 50 % [51].

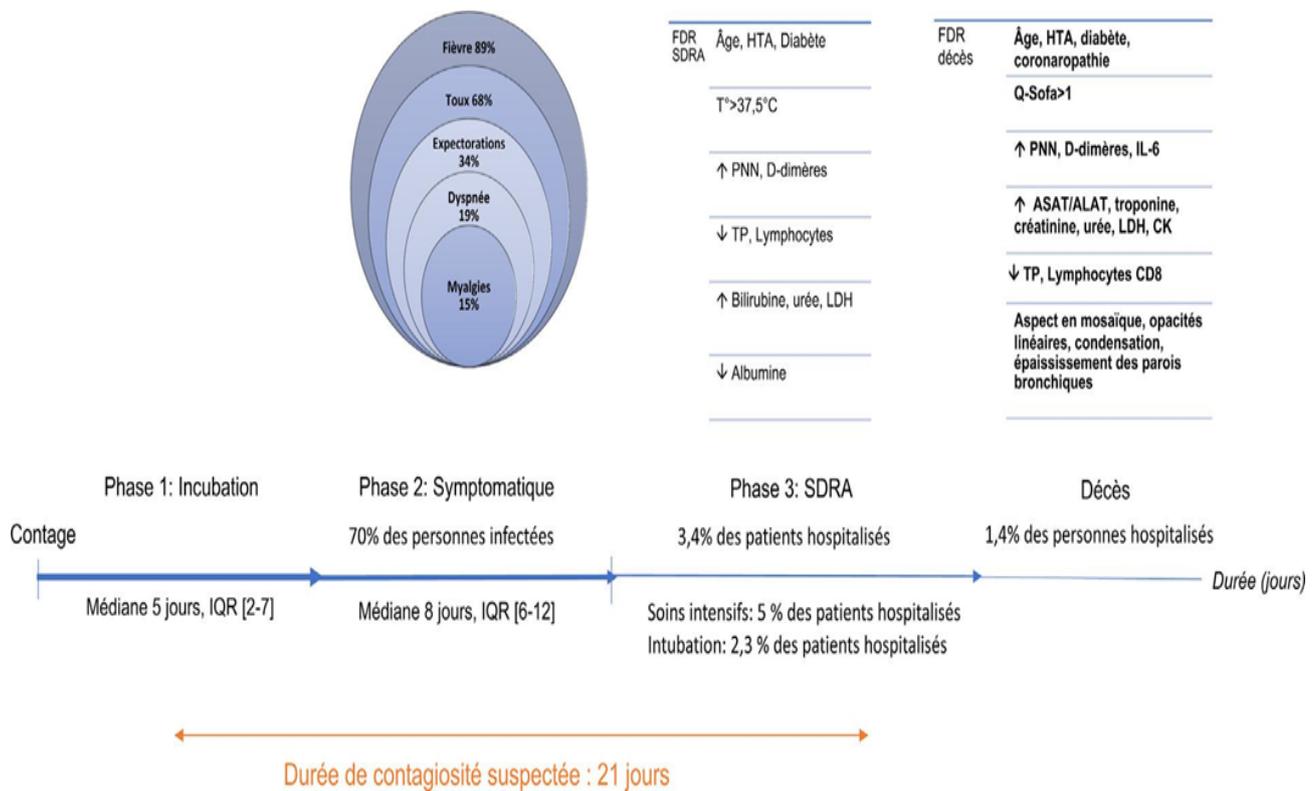


Figure 12 : présentation clinique et facteurs de sévérité de l'infection à SARS-CoV-2.

[51]

### b. Formes symptomatiques :

L'infection par le SARS-CoV-2 se manifeste essentiellement par une atteinte respiratoire, mais une sémiologie plus riche commence à être rapportée.

Dans les trois études de Wu et al., Guan et al. et Zhou et al., les signes cardinaux du COVID-19 associaient une fièvre supérieure à  $37,5^{\circ}\text{C}$  (88,7-4 %), une toux (67,8-81,1 %), des expectorations (23-41,3 %) et une dyspnée (18,7-39,8 %), survenant dans les premiers jours de l'infection [49,52,53].

Par ailleurs, des myalgies étaient fréquentes (14,9-32,3 %) et des signes digestifs pouvant être inauguraux étaient également rapportés, tels que diarrhée (3,8-5 %) et nausées/vomissements (4-5 %). [31,49,52]

Certains patients présentent une atteinte neurologique, qui avait déjà été rapportée lors de l'épidémie provoquée par le SARS-CoV-1 [53]. Dans l'étude de

Mao et al., 36,4 % des 214 patients inclus présentaient des signes neurologiques [54].

Une augmentation des consultations médicales pour anosmie/agueusie sans obstruction nasale a également été rapportée dans le contexte de la pandémie provoquée par le SARS-CoV-2, rappelant l'atteinte olfactive qui avait été rapportée pour le SARSCoV-1 [55,56].

Une souffrance myocardique est retrouvée chez 10 à 20 % des patients, documentée par une élévation de la troponine au-delà du 99e percentile, des modifications électrocardiographiques et/ou écho cardiographiques. [50,52,57]

Des atteintes ophtalmologiques à type de conjonctivite ont également été décrites, dont une a été objectivée par RT-PCR sur prélèvement conjonctival. Elles semblent associées aux formes sévères de la maladie [49].

Une atteinte rénale spécifique de l'infection n'a à ce jour pas été décrite, même si elle est suspectée. La fréquence de l'insuffisance rénale aiguë chez les patients infectés semblait faible dans l'étude de Guan et al. (0,5 %) [49].

L'hyperglycémie était retrouvée chez 45 % et 52 % des patients dans les études de Wu et al. et Chen et al., respectivement [53,59]. Elle peut être expliquée par l'hypersécrétion de glucocorticoïdes endogènes secondaire dans le contexte de stress induit par l'infection ou par l'utilisation de corticoïdes à visée thérapeutique.

Enfin, des lésions cutanées sont évoquées mais n'ont pas à ce jour fait l'objet de publication confirmant leur association au COVID-19. Des lésions maculo-papuleuses érythémateuses touchant exclusivement le visage, et des lésions à types d'engelures possiblement liées au COVID-19 sont en cours de recueil [60]. Des réactions urticariennes ont aussi été observées au décours de l'infection, bien qu'elles puissent être aspécifiques.

c. Signes cliniques associés au SDRA et/ou à la mortalité

Un score Quick-Sofa  $> 1$  (c'est-à-dire la présence d'au moins deux des trois paramètres suivants : fréquence respiratoire  $\geq 22$ /minute, trouble des fonctions supérieures (confusion, désorientation, score de Glasgow  $< 15$ ), pression artérielle  $\leq 100$  mmHg) est significativement associé à la mortalité en analyse multivariée [52].

Certains auteurs ont suggéré que l'utilisation d'un autre score de gravité, le NEWS 2, pourrait être plus adaptée à cette situation septique avec dysfonction d'organe [61].

L'existence d'une fièvre  $> 37,5$  °C, et a fortiori  $> 39$  °C était associée à la survenue d'un SDRA mais paradoxalement, aussi à une meilleure survie chez les patients en SDRA [52,53,62]. Il semble par ailleurs que l'infection par le SARS-CoV-2 soit associée à un état pro-thrombotique compliqué de thromboses veineuses profondes et d'embolies pulmonaires. Ce risque, dont la quantification n'a fait l'objet d'aucune publication, reste à préciser. Cependant, une anticoagulation préventive par héparine de bas poids moléculaires (enoxaparine 0,4 à 0,6 ml/24 h) ou par héparine non fractionnée (10 000–15 000 UI/24 h), prescrite pendant plus de 7 jours, était significativement associée à une diminution de la mortalité à 28 jours dans la population qui présentait une élévation des D-dimères supérieure à six fois la normale. Cette étude, réalisée chez 449 patients, suggère de façon indirecte un sur-risque de décès par événements thrombotiques chez les patients atteints de COVID-19. [63]

## 2. Diagnostic biologique :

Les types de tests virologiques du Covid-19 :

- ✓ Tests moléculaires : RT-PCR et Amplification isotherme
- ✓ Tests sérologiques :
  - ❖ Les tests unitaires dits rapides (qui donnent un résultat en une dizaine de minutes).
  - ❖ Les tests automatisés (dont la lecture est un peu plus longue '20minutes'), notamment ELISA et CLIA.
- ✓ Tests antigéniques :
  - ❖ Tests sanguins (Ag N/sang)
  - ❖ Tests rapides / NPS
- ✓ Culture cellulaire ou isolement
- ✓ Microscopie électronique : particule virale de coronavirus

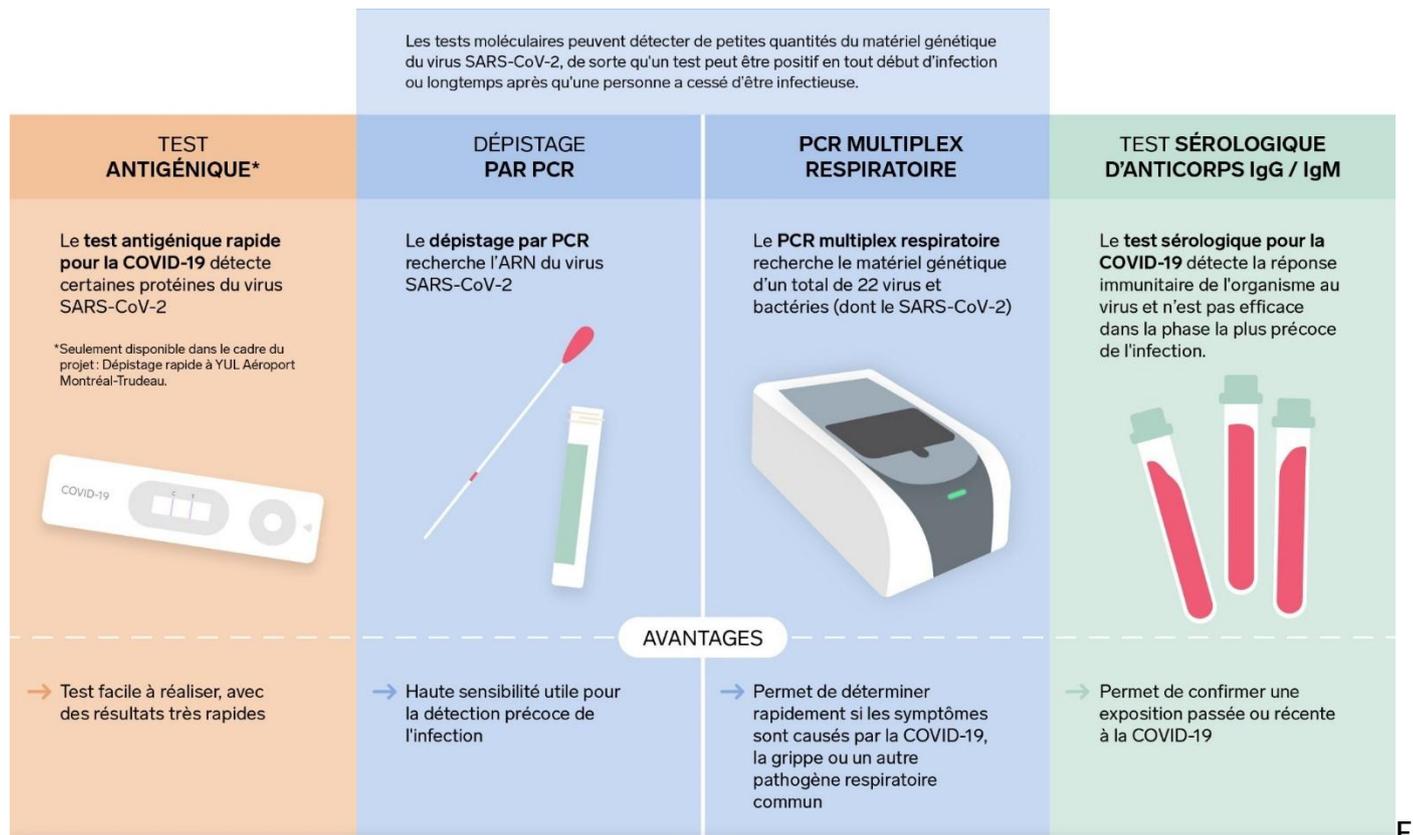


Figure 13 : les différents tests de SARS-COV2 [65]

a. La Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction ou RT-PCR :

La méthode diagnostique de choix du SARS-CoV-2 est la détection génomique par une méthode de biologie moléculaire (RT-PCR) dans les prélèvements respiratoires, de préférence sur un frottis nasopharyngé. C'est un test hautement spécifique avec une sensibilité variante entre 95% et 97%.[65]

➤ Etape pré-analytique :

Selon les recommandations de l'OMS, la manipulation des prélèvements microbiologiques d'un patient suspect de Covid-19 peut se réaliser dans un laboratoire de sécurité biologique de niveau 2 en respectant les bonnes pratiques de travail, surtout lors des manipulations pouvant entraîner accidentellement des aérosols, en mettant à disposition une conduite à tenir en cas d'incident. La culture du virus doit se faire dans un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3.(66)

❖ Prélèvement :

Le test de référence de dépistage du Sars-CoV-2 repose sur la détection de l'ARN viral par RT-PCR sur prélèvements rhino-pharyngés dont les performances seraient meilleures que sur prélèvements oro-pharyngés.

Les prélèvements salivaires ont été envisagés car moins désagréables mais leur sensibilité variable selon les études ne permet pas encore de les recommander de façon large [8] .

Tout d'abord, il faut suivre les mesures de prévention de contamination lorsque des échantillons sont prélevés sur un cas suspect. L'examineur doit porter des gants, un masque respiratoire FFP2/N95, une blouse et des lunettes de protection ou une visière protectrice.

Le patient doit être coopératif, il doit être assis dans une position détendue et confortable pendant le prélèvement de l'échantillon; demandez au patient de se moucher d'abord, et de placer la tête légèrement en arrière ,soutenez-la avec la main non dominante, ou appuyez-la contre le mur afin minimiser les mouvements subis incontrôlés pendant la prise d'échantillon, et tenez-vous debout légèrement en décale par rapport au patient pour éviter le risque de contamination en cas de toux ou d'éternuement soudain. Informez le patient de la gêne potentielle pendant le prélèvement de l'échantillon. (Figure 14)

Les échantillons collectés peuvent être mis au réfrigérateur à 4°C pendant un maximum de 3 jours et être traités par le laboratoire dans ce laps de temps trois jours. L'idéal est toutefois d'analyser l'échantillon aussi tôt que possible après le prélèvement.

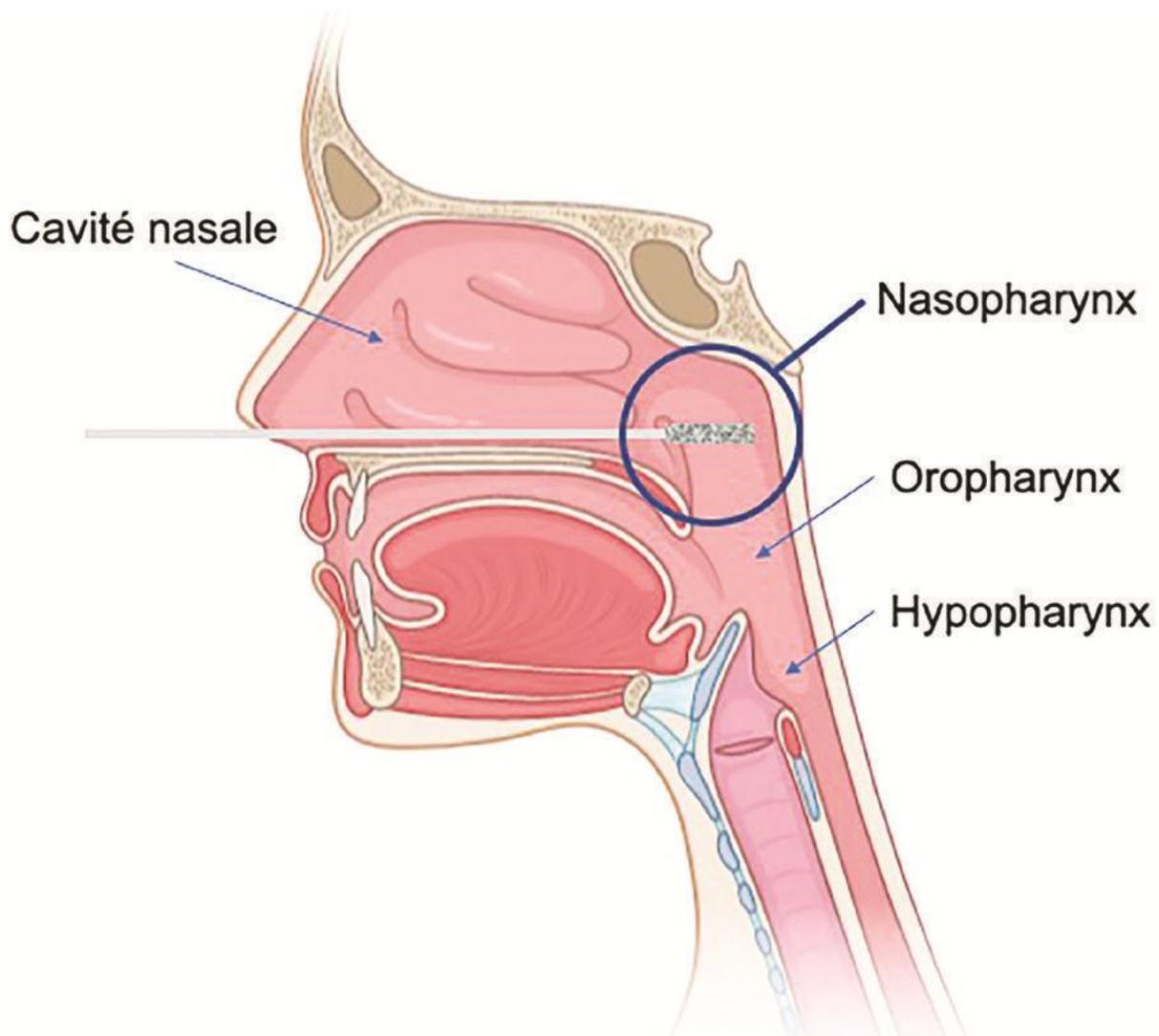


Figure 14 : Coupe sagittale des voies aériennes supérieures illustrant les modalités de réalisation d'un prélèvement rhino-pharyngé avec un écouvillon [67]

**La procédure comprend les étapes suivantes :**

- Patient assis, dos contre le dossier du siège, inclinaison de la tête en arrière ;
- soulever la pointe du nez pour dégager l'orifice narinaire ;
- tenir l'écouvillon par l'extrémité distale de la tige et l'insérer perpendiculairement au plan de la face, sans toucher l'orifice narinaire ;
- suivre le plancher de la fosse nasale ;
- tourner l'écouvillon avant le retrait ;
- décharger l'écouvillon dans le milieu de transport.

❖ Acheminement :

Le clinicien doit informer le laboratoire de la suspicion d'infection Covid-19. Les échantillons respiratoires sont adressés au laboratoire par un transporteur en utilisant un conditionnement de catégorie B (norme UN 3373)/triple emballage (tube - contenant rigide a visser - Biotainer rigide UN 3373).

➤ Etape analytique :

La première étape de la RT-PCR consiste à rétrotranscrire l'ARN du SARS-CoV-2 en ADN complémentaire ou ADNc qui sera la suite amplifié. Cette étape est assurée par une ADNpolymérase-ARN-dépendante qui synthétise le brin d'ADNc simple brin à partir de la matrice ARN.

Le second brin est synthétisé grâce à une amorce et une ADN polymérase. Cette étape est suivie par la dénaturation qui consiste à chauffer l'échantillon pendant 10 à 15 minutes à une température de 95°C, ce qui permet une séparation des deux brins de l'ADNc.

L'hybridation consiste la troisième étape de ce processus qui se déroule à une température comprise entre 50 et 95°C, les amorces sont de courtes séquence ADN qui se fixent spécifiquement à l'ADN à amplifier.

Les amorces fonctionnent par paires (un sens 5'-3' servira de base pour l'élongation du brin anti-sens et un anti-sens 3'-5' servira de base pour l'élongation du brin sens 5'-3').

La dernière étape consiste en élongation réalisée par la Taq polymérase active à une température de 72°C, qui permet en se fixant à l'amorce de synthétiser un brin d'ADN complémentaire à la matrice grâce aux désoxyribonucléotides disponibles dans le milieu.

Après cette étape, le cycle reprend du début. Les cycles se succèdent jusqu'à que la quantité d'amplicon est suffisamment importante pour être détecté (figure15 )

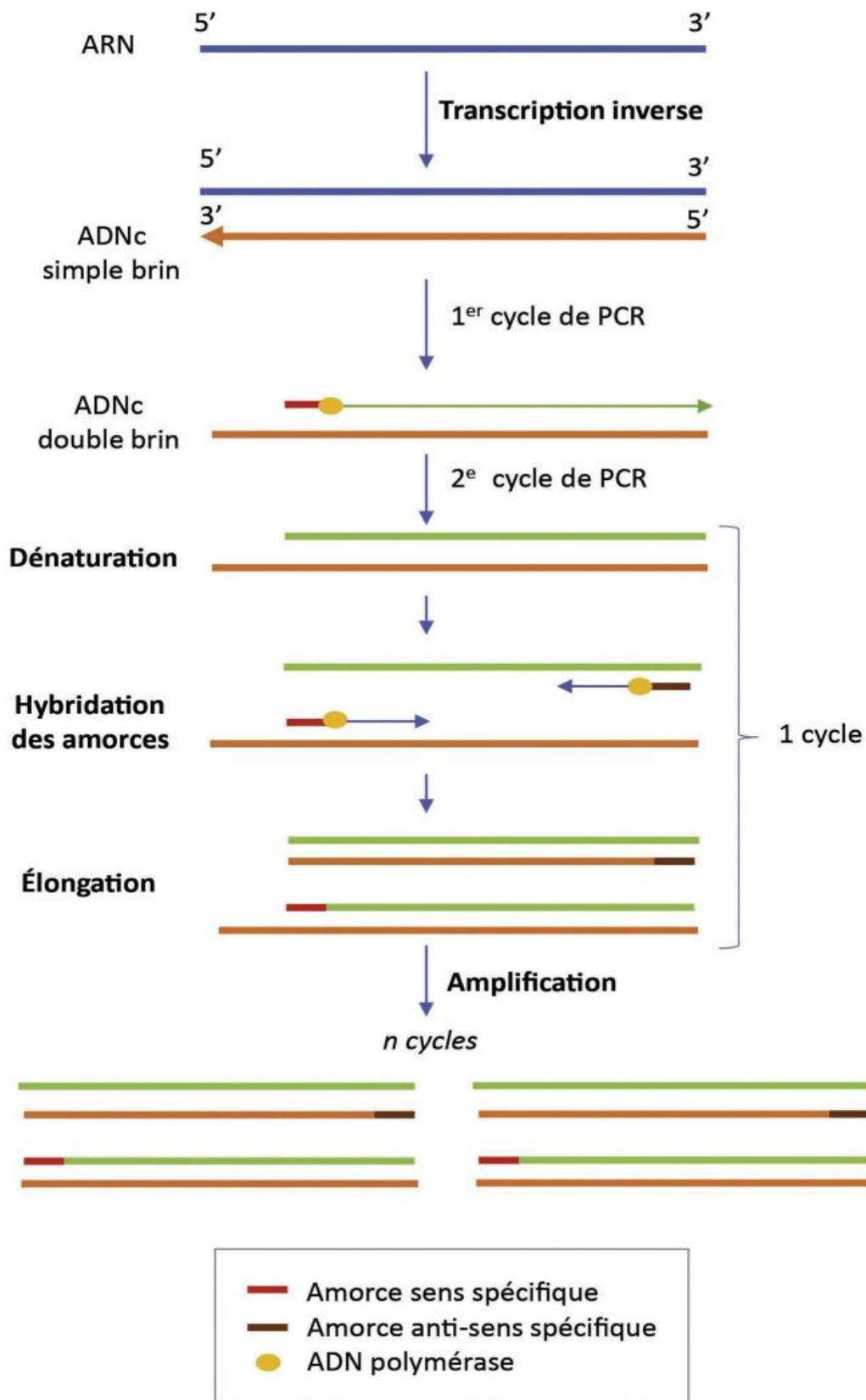


Figure15:Principe de la RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction)

[68]

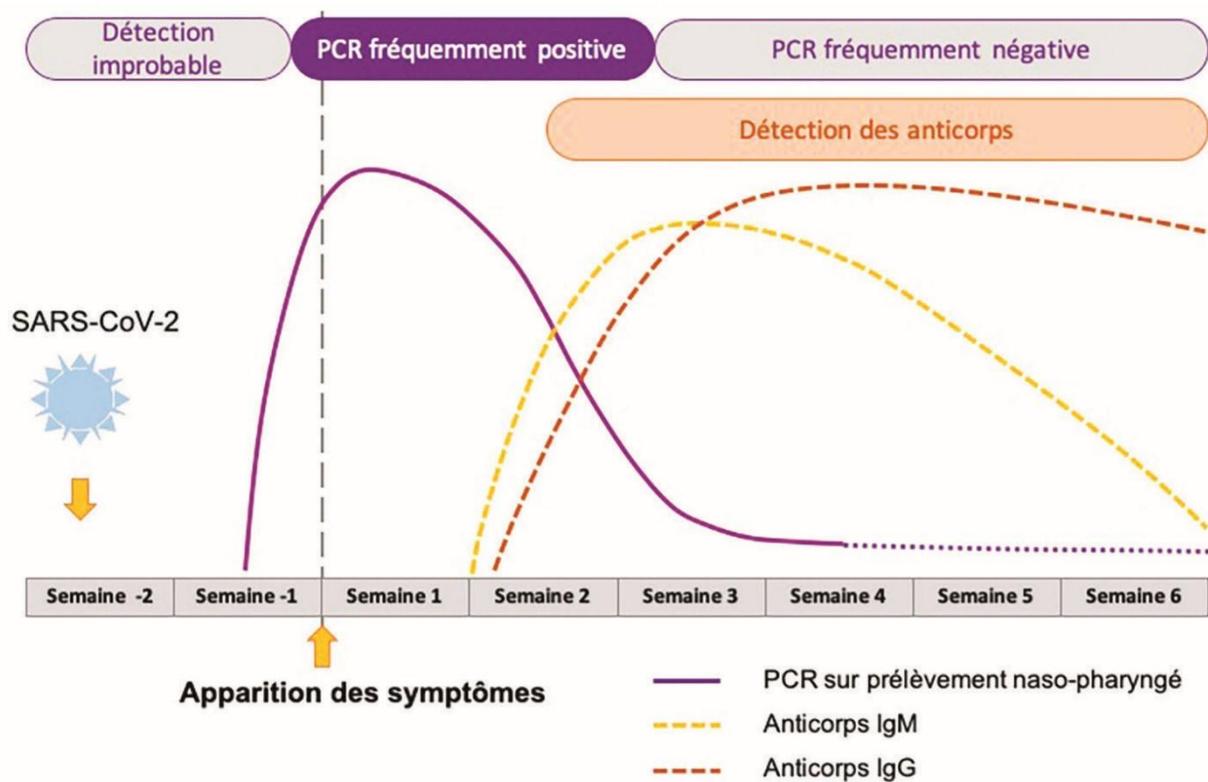


Figure16 : Cinétique des marqueurs diagnostiques en fonction du stade de l'infection. [67]

**b. Tests sérologiques :**

Les tests sérologiques permettent la détection des anticorps spécifiques produits par l'organisme et dirigés contre le SARS-CoV-2. On distingue les tests dit tests ELISA , CLIA et les tests immunochromatographiques. Ces derniers incluent les tests rapides de détection d'anticorps et les tests rapides de détection d'antigène.

Ces tests sont réalisés sur des prélèvements sanguins et pourraient avoir une utilité pour identifier les patients ayant développé une immunité vis-à-vis du SARS-CoV-2 qu'ils aient été symptomatiques ou pas.

- ✓ Données physiopathologiques sur la production d'anticorps anti-SARS-CoV-2 :

Les SARS-CoV-2 stimulent une réponse immunitaire. Dans la phase précoce de la maladie, La cinétique de production des Ac anti SARS-CoV-2 a été essentiellement documentée par la détection des IgG et des IgM. Il a été cependant montré dans quelques études que la détection des IgA est contemporaine à celle des IgM, en moyenne 5 jours après l'apparition des signes cliniques (3 à 6 jours), avec un taux de séroconversion de 90 % à 100% de J 15 à J 21<sup>20,59,60</sup>.

La détection des IgM et des IgG est observée entre J5 et J14 après le début des signes cliniques avec un délai médian de 5 à 12 jours pour les IgM et 14 jours pour les IgG et les IgA<sup>20,61-63</sup>. La réponse humorale semble limitée dans le temps avec la baisse du titre des Ac de type IgG et des Ac neutralisants observés 2 à 3 mois après l'infection, ceci est observé plus spécifiquement chez des personnes ayant présenté des formes asymptomatiques ou paucisymptomatiques<sup>20,64,65</sup>(figure 16).

Toutefois, le titre en anticorps est très variable d'un patient à l'autre. Les patients d'âge moyen ou très âgés ont des taux plasmatiques significativement plus élevés que les patients jeunes. A l'inverse, le taux d'anticorps est généralement

élevé chez les patients ayant présenté un COVID sévère mais leur caractère neutralisant n'est pas fréquemment évalué.

➤ ELISA :

C'est une technique immuno-enzymatique de détection qui se fait en laboratoire et qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.

L'utilisation d'anticorps monoclonaux rend la détection spécifique et la réalisation d'une gamme en parallèle (droite de référence réalisée en diluant de manière sériée avec un contrôle positif) permet de quantifier les anticorps du patient présents dans le sang.

Une réaction enzymatique rend toutefois cette technique dépendante de la température, du pH et de l'éclairement. Concrètement, l'ELISA nécessite la réalisation de différentes étapes successives : antigène spécifique du virus SARS-CoV-2 (la protéine N contenue dans la nucléocapside virale ou le récepteur de liaison du virus dit RBD (Receptor Binding Domain) est fixé pendant une nuit dans le fond d'un puit d'une plaque 96 puits («coating») ; les anticorps présents dans l'échantillon de plasma du patient vont se fixer spécifiquement sur l'antigène. Un anticorps de détection va ensuite fixer les anticorps humains à doser. Ces anticorps de détection sont couplés à une enzyme qui en présence de son substrat le transforme en produit de réaction détectable et mesurable grâce à l'apparition d'une coloration L'intensité de celle-ci est proportionnelle à la quantité d'enzyme présent et donc à la concentration d'anticorps recherché.

Parfois au lieu d'utiliser une anti-globuline marqué par une enzyme , on utilise un antigène semblable à celui fixé sur la plaque ELISA , et marqué par une enzyme qui se fixe lui aussi à l'anticorps recherché.

➤ Chemiluminescence Immuno-Assay ou CLIA :

il s'agit d'un dosage immunologique des AC spécifiques anti-S1 et S2 de SARS-CoV2. La glycoprotéine de spicule (S) est une protéine de fusion virale qui joue un rôle essentiel dans l'infection vu qu'elle reconnaît les récepteurs cellulaires permettant la pénétration virale. Ces protéines de spicule sont des composants immunogènes majeurs des CoV .

Les anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2 présents dans l'échantillon se lient aux microparticules recouvertes d'antigène SARS-CoV-2 . Après lavage, le conjugué d'anticorps anti-Ig humaines marqué à l'acridinium est ajouté pour former un mélange réactionnel puis incubé. Après un autre cycle de lavage, les solutions de pré-activation et d'activation sont ajoutées.

La réaction chimiluminescente résultante était mesurés en unités relatives de lumière ( URL) . il existe une relation directe entre la quantité d'anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2 présente dans l'échantillon et les URL détectées par le système optique.

➤ Test rapide de détection d'anticorps:

Le test rapide pour le diagnostic du SRAS-CoV-2 permet une détection qualitative des IgG et/ou des IgM dans le sérum, le sang total ou le plasma humains en 10 à 15 minutes environ. Les tests rapides sont basés sur le principe de l'immuno chromatographie à flux latéral et sont disponibles sous forme de cassette. Le test est basé sur la séparation des composants d'un mélange à travers un milieu en utilisant la force capillaire et la liaison spécifique et rapide d'un anticorps à son antigène.

c. Les tests rapides de détection des antigènes du virus SARS-CoV-2:

Ce test « COVID-19 Ag Respi-Strip diagnostic assay » est un test immunochromatographique développé par la firme belge Coris Bioconcept pour la détection rapide de l'antigène CoV-2 du SRAS sur un échantillon nasopharyngé. Il a été mis au point pour identifier les patients COVID-19 positifs. A ce titre c'est test de screening rapide, qui constitue une alternative à la RT-qPCR, et permet de prendre rapidement des décisions cliniques et de quarantaine. Ce test a une sensibilité de <60% et une spécificité de 99.5%. Il est positif chez les patients présentant une charge virale élevée (correspondant à un Ct de < 25).

Sa faible sensibilité constitue donc un handicap majeur pour une utilisation visant à détecter tous les cas COVID-suspects.

## **E. Interprétation des résultats :**

### **1. Performances diagnostiques des tests sérologiques d'après la littérature : (76)**

#### ➤ Analyse critique de la littérature :

Etant donné que le recours aux tests sérologiques automatisables de type ELISA a été recommandé, une première approche a été de caractériser, d'après la littérature scientifique disponible, les performances diagnostiques des tests sérologiques rapides soit par comparaison directe avec les tests automatisables, soit par défaut, de manière descriptive, par comparaison indirecte (études portant sur les performances diagnostiques des tests sérologiques automatisables d'une part et études portant sur les performances diagnostiques des tests sérologiques rapides d'autre part).

Les publications sélectionnées sont très hétérogènes en matière de :

- population pour la validation clinique de la sensibilité ; certaines études ont sélectionné des patients avec un diagnostic de COVID-19 confirmé par RT-PCR, d'autres des patients avec un diagnostic clinique, radiologique et biologique ;

- sérums pour la validation clinique de la spécificité : certaines études ont évalué la spécificité dans des sérums de patients infectés par d'autres coronavirus, dans des sérums pré-épidémiques, dans des sérums de patients atteints d'autres maladies infectieuses ou de pathologies chroniques, et d'autres dans des sérums de sujets en bonne santé ou pas exposés.

- tests : les tests rapides évalués sont basés sur la technologies CLIA,

- jour de prélèvement : certaines études réalisent le test d'anticorps chez les patients en simultané avec le test RT-PCR, d'autres à distance de la RT-

PCR sans préciser à quel moment ; enfin, certaines études précisent le jour du prélèvement par rapport au début des symptômes .

Le tableau (23) ci-dessous présente les principaux résultats des études retenues ; sont détaillés si l'information est disponible : la population pour la validation de la sensibilité et de la spécificité, le test de référence, le type de test utilisé et la marque, la sensibilité et la spécificité. Etant donné que la seule étude comparative directe identifiée n'était pas concluante, compte tenu des nombreux biais évoqués précédemment, les études rapportant des performances de tests automatisables (ELISA) ou de tests rapides sont également présentées.

**→Au sein de ces études, les taux de sensibilité des tests sérologiques de type ELISA pour les IgG, IgM ou IgG et IgM variaient selon les études entre 75 et 93 %, tandis que pour les tests rapides, ils variaient entre 36 et 100 %. Les taux de spécificité rapportés dans ces études étaient du même ordre entre les tests sérologiques de type ELISA (91,9 à 100 %) et les tests type CLIA (89 et 100 %). Par conséquent, du fait de la grande hétérogénéité de ces études tant au niveau de leurs conceptions que de leurs résultats, il n'est pas possible de conclure sur la base des résultats de ces dernières sur l'utilité clinique des tests d'anticorps rapides dans leur globalité dans ce contexte d'urgence sanitaire.**

Ces résultats sont donc présentés à titre informatif dans le tableau ci-dessous, considérant l'état de la littérature scientifique à ce jour, et soulignent la nécessité de s'appuyer sur des évaluations des tests sérologiques rapides faites dans des centres de référence.



## 2. Performances diagnostiques des tests sérologiques d'après notre évaluation : (Tableau 23)

Tableau (23) : regroupe les performance des 2 tests : ELISA et chimiluminescence dans notre étude en comparaison avec d'autres études.

Étude présentant les performances diagnostiques d'un test de type ELISA et CHIMILUMINECENCE							
Auteur	Objectif de l'étude	Type d'étude	Nombre des cas	Test de référence	Tests sérologique	Sensibilité %	Spécificité %
<b>Notre étude</b>	Évaluer les performances sero-diagnostiques d'un test ELISA	Etude prospective (HMMIM)	Nbre : 41 -31 sérums de patients COVID-19 + prélevés entre J2 et J16 après l'apparition des symptômes -10 sérums des donneurs de sang en période avant Covid-19 (novembre 2019).	RT-PCR	ELISA (PLATELIA Sars-Cov-2 total Ab de Biorad)	Calculée chez les 31 patients : COVID+ = 90,91% (7_16 Jr)	Chez les 10 sérums pré-épidémiques Spé = 100%
<b>Notre étude</b>	Évaluer les performances séro-diagnostiques d'un test CLIA IgG/IgM.	Etude prospective (HMMIM)	Nbre : 96 -82 sérums de patients COVID-19 + prélevés entre J1 et J30 après l'apparition des symptômes -14 sérums des donneurs de sang en période avant Covid-19 (novembre 2019).	RT-PCR	Chimiluminescence (CLIA) IgG et IgM ABBOTT	- IgM = 88,23 % (8-14Jr) - IgG = 88,46%(≥15Jr)	Chez les 14 sérums pré-épidémiques Spé = 100%

<b>Zhao R (69)</b>	Évaluer un test de détection d'anticorps	Étude rétrospective (Chine)	-69 sérums de patients COVID-19+ (hospitalisés ou guéris). -412 sérums contrôles collectés avant ou durant l'épidémie.	Diagnostic clinique	ELISA	Calculée chez les 69 patients : - COVID+ = 97,1 %.	Chez les 412 sérums pré-épidémiques Spé = 97,5 %.
<b>Jin Y (70)</b>	Évaluer les performances séro-diagnostiques d'un test rapide IgG/IgM.	Étude rétrospective (Chine)	43 COVID 19+ 33 cas contrôles, initialement suspects de COVID-19, finalement COVID exclue.	RT-PCR	Chimiluminescence (CLIA) IgG et IgM (Shenzhen YHLO Biotech Co.)	- IgM = 48,1 %. - IgG = 8,9 %.	- IgM = 100 %. - IgG = 90,9 %.
<b>Bryan (71)</b>	Evaluation des performances du test IgG Abbott Architect SARS-COV-2 et de la séroprévalence en Boise, Idaho (Etats-Unis d'Amérique).	Etude rétrospective (Etats-Unis d'Amérique)	1 020 sérums de patients pré-épidémiques collectés entre 2018 et 2019. 125 patients avec un diagnostic COVID-19 confirmé par RT-PCR.	RT-PCR	Chemiluminescent microparticle immunoassay IgG Abbott Architect SARS-COV-2	Chez les 125 patients avec un diagnostic confirmé : - Se à 17 jours suivant l'apparition des symptômes = 100 %.	Chez les 1 020 sérums pré-épidémiques : Spé = 99,9 %.

Xiang F (72)	Évaluer les performances séro-diagnostiques d'un test ELISA.	Cohorte prospective (Chine)	<p>66 patients avec (RT-PCR +) à 13-29 JAS et 24 patients suspects de COVID-19 basé sur l'épidémiologie et clinique (mais avec RT-PCR-) à 3-40 JAS.</p> <p>Cas contrôle (N = 60) : donneurs de sang en bonne santé, professionnels de santé non exposés ou patients hospitalisés avec d'autres diagnostics.</p>	RT-PCR. Si RT-PCR nég, retest 1 ou 2 jours après pour confirmation.	ELISA (Livzon Inc)	<p>Chez les 66 patients COVID + :</p> <p>- IgM = 77,3 % ; - IgG = 83,3 %.</p> <p>Chez les 24 patients suspects COVID :</p> <p>- IgM = 87,5 % ; - IgG = 70,8 %.</p>	<p>Chez les 66 patients COVID + :</p> <p>- IgM spé = 100 % ; - IgG spé = 95,0 %.</p> <p>Chez les 24 suspects COVID :</p> <p>- IgM = 100 % ; - IgG = 96,6 %.</p> <p>Chez le groupe contrôle :</p> <p>- IgM Spé = 100 % ; - IgG spé = 95 %*.</p>
--------------	--	-----------------------------	---	---	--------------------	--	--

La répétabilité et la reproductibilité pour les deux test ELISA et CLIA étaient excellentes à 100% , ce qui prouve la fiabilité des tests avec lesquels nous avons travaillé.

La sensibilité des tests sérologiques ELISA et CLIA dans notre étude est trop faible au cours de la première semaine suivant l'apparition des symptômes pour qu'ils jouent un rôle primordial dans le diagnostic de la COVID-19, avec un pourcentage de 11,11% pour l'ensemble des AC pour ELISA et de (13,63% IGM /4,54% IGG) pour CLIA.

A partir de la première semaine la sensibilité augmente avec un pourcentage de 90,91% pour le test ELISA et de (88,23% IGM) pour le test CLIA, ce dernier a objectivé une stabilité relative de la sensibilité des IGM (80,76%) et un pic des IGG (88,46%) quand le délai entre l'apparition des symptômes et le prélèvement sanguin dépasse les 15 jours.

Et delà on peut déduire que les tests sérologiques sont susceptibles de jouer un rôle utile dans la détection d'une infection antérieure par le SARS-COV-2 s'ils sont effectués 8 jours ou plus après l'apparition des symptômes.

Cependant, notre étude présente certaines limites concernant la durée de l'augmentation des anticorps qui reste inconnue, en raison des cas sur lesquels on 'a travaillé, dont le délai entre l'apparition des symptômes et le prélèvement sanguin ne dépassait pas les 30aines de jours.

Comparativement aux deux études chinoises (celles de Zhao et al et Xiang et al) ayant évalué des tests type ELISA, notre test ELISA avait une sensibilité de (90,91%) un peu plus élevée que celle de Xiang et al (83,3%) pour les patients confirmé COVID +, et inférieur à celle de Zhao et al (97,1%). En matière de spécificité, nos résultats (Spe= 100%) étaient très similaires à ces deux études. Pour la série de Xiang et al, la spécificité était de 95% pour les IgG et 100% pour les IgM

en ce qui concerne les patients confirmés COVID positifs, pour la série de Zhao R et al , cette spécificité était de 97,5%.

Pour la technique de chimiluminescence (CLIA Abbott) , la comparaison de notre étude avec celle réalisée aux états unis(Bryan et al) sur une série de 125 patients confirmés COVID positifs, retrouve des performances diagnostiques parfaites pour l'étude américaine (Se = 99,9% et Spé= 100 %) alors que pour notre étude la sensibilité était seulement de 88,46% et la spécificité de 100% . le délai entre l'infection et la réalisation de la sérologie pourrait expliquer cette différence de sensibilité .

Toutefois, les différents biais cités auparavant (sélection des patients, délai entre infection et réalisation de sérologie) rendent vraiment la comparaison de ces performances diagnostiques moins précise.

# Recommandation

D'après notre analyse, on a déduit Les indications possibles suivantes, pour les tests RT-PCR et la Sérologie :

Tableau 24 : regroupe les indications de test RT-PCR et la sérologie

type de test	La symptomatologie	Délai de réalisation de test
RT -PCR	symptomatique	-du 1 <sup>er</sup> jusqu'au 7 <sup>ème</sup> jour de l'apparition des symptômes. -du 2 <sup>ème</sup> jusqu'au 7 <sup>ème</sup> jour : Si la 1 <sup>ère</sup> RT-PCR a été négative mais associée à une forte suspicion de Covid-19
	Asymptomatique avec exposition	-De 03 à 10 jours de l'exposition
Sérologie	symptomatique	-a partir le 8 <sup>ème</sup> jour d'apparition des symptômes si pas de RT-PCR -a partir le 8 <sup>ème</sup> jours d'apparition des symptômes : si RT-PCR négative associée à une forte suspicion de Covid-19
	Asymptomatique avec exposition	-après 14 <sup>ème</sup> jours de l'exposition, Seulement si pas de RT-PCR

# CONCLUSION

L'infection au SARS-COV-2 est une virose respiratoire pouvant être grave. Son diagnostic d'urgence se fait d'habitude par des tests directs détectant soit l'ARN ou les antigènes viraux.

Au cours de l'évolution de la maladie, les anticorps apparaissent progressivement et deviennent souvent détectable après une semaine de début des symptômes .A partir de ce moment les tests sérologiques peuvent être utiles pour le diagnostic de la maladie.

Notre évaluation a montré des performances diagnostiques des tests ELISA et CLIA très satisfaisantes en matière de sensibilité (90,91% et 88,23% respectivement), avec une parfaite spécificité (100%) .Ces résultats étaient parfaitement concordants avec ceux de la littérature.

L'utilité de ces tests est faibles pendant la phase aiguë (1ere semaine) de la maladie, au-delà de cette période, ils deviennent un outil diagnostique important pour prouver une infection à SARS-CoV2 et peuvent prendre le relai des diagnostics moléculaires et antigéniques surtout en cas de non disponibilité de ces derniers.

La sérologie serait donc incontournable selon notre étude :

- pour le diagnostic rétrospectif d'une COVID-19 guérie ou pendant la dernière phase de la maladie.
- Pour effectuer des enquêtes séro-épidémiologiques, dans le cadre de la surveillance épidémiologique.
- Pour les patients symptomatiques seulement si pas de RT-PCR ou si RT-PCR négative associé à une forte suspicion de COVID-19 et après 8 jours du début de symptômes
- Pour les sujets asymptomatiques seulement si pas de RT-PCR , après 14jours de l'exposition.



# RESUME

## **Resume**

### **Introduction**

La COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) est une maladie virale secondaire à l'infection par un virus appartenant à la famille de coronaviridae, récemment découvert en Décembre 2019 à la ville de Wuhan en Chine, et appelé SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus2).

Après son émergence, cette infection a connu une propagation rapide à l'échelle internationale, et a été responsable de conséquences dévastatrices en engendrant un nombre important de personnes infectées et de décès ainsi qu'un retentissement négatif sur le plan socioéconomique.

Par conséquent, L'organisation mondiale de la santé (OMS) a tiré le signal d'alarme le 11 Mars 2020 en déclarant la maladie de la COVID-19 une pandémie mondiale.

La progression rapide de la pandémie de COVID-19 dans le monde révèle les limites actuelles de nos capacités de diagnostic virologique direct par RT-PCR d'où l'intérêt de mettre en valeur la place des tests immunologiques dans le diagnostic de COVID-19 .

Notre évaluation a pour objectif de définir les performances et la place des tests sérologiques : ELISA et CLIA, dans la prise en charge de la maladie COVID-19 en prenant la PCR comme Gold standard.

### **Matériels et méthodes**

✓ Il s'agit d'une étude prospective menée du 1<sup>er</sup> Juin 2020 à 30 janvier 2021, sur des patients diagnostiqués positif au COVID-19 par la RT-PCR et hospitalisés à HMMI Meknès , et un groupe témoin (sérums des donneurs de sang) datant du mois de novembre 2019 avant la pandémie pour évaluer la spécificité des tests sérologiques ELISA (41 cas )et CLIA (96 cas). Réalisée : au laboratoire de

biologie médicale Hôpital Militaire Moulay Ismail Meknès HMMI, unité biologie moléculaire et biosécurité.

### Résultats :

Résultats d'évaluation de test ELISA et CLIA :

- ELISA : sur un échantillon de 31 cas (covid-19) positifs par RT-PCR, nous avons trouvé 21 cas positifs et 10 cas négatifs sur ELISA.
- CLIA : sur un échantillon de 82 cas (covid-19) positifs par RT-PCR, nous avons trouvé les résultats suivant pour le test CLIA :
  - IgM : 54 cas positifs et 28 cas négatifs.
  - IgG : 32 cas positifs et 50 cas négatifs.

La spécificité : pour les deux tests ELISA ET CLIA aucun faux positif n'a été observé, donc la spécificité pour les 2 tests était 100%.

La sensibilité des tests sérologiques est trop faible au cours de la première semaine suivant l'apparition des symptômes pour qu'ils jouent un rôle primordial dans le diagnostic de la COVID-19, avec un pourcentage de 11,11% pour l'ensemble des AC pour ELISA et de (13,63% IGM /4,54% IGG) pour CLIA.

A partir de la première semaine la sensibilité augmente avec un pourcentage de 90,91% pour le test ELISA et de (88,23% IGM) pour le test CLIA, ce dernier a objectivé une stabilité relative de la sensibilité des IGM (80,76%) et un pic des IGG (88,46%) quand le délai entre l'apparition des symptômes et le prélèvement sanguin dépasse les 15 jours.

### Discussion et conclusion :

Les résultats de notre étude concordent avec ceux de la littérature ; les taux de sensibilité des tests sérologiques de type ELISA pour les IgG, IgM ou IgG et IgM variaient selon les études entre 77 et 97 %, tandis que pour les CLIA, ils variaient entre 48 et 100 %. Les taux de spécificité rapportés dans ces études étaient du même ordre entre les tests sérologiques de type ELISA et CLIA (90 à 100 %)

D'après notre étude le rôle des tests sérologiques n'est pas significatif au cours de la phase aigue de la maladie (de 01 à 07jours), mais il garde sa place dans la prise en charge de COVID-19 à partir la 1ere semaine de la maladie.

### **Abstract :**

**Title:** Place of serology in the positive diagnosis of COVID 19, (preliminary evaluation of the HMMI biology department)

**Author:** Bouchallikh Amal

**Keywords:** COVID-19, SARS-CoV-2, pandemic, Serological tests, RT-PCR

#### **Introduction:**

COVID-19 is a viral disease caused by a virus belonging to the coronaviridae family, recently discovered in December 2019 in the city of Wuhan in China, and called SARS-CoV-2.

After its emergence, this infection has spread quickly at the International scale, and as a result The World Health Organization sounded the alarm on March 11, 2020 by declaring the disease of COVID-19 as a global pandemic.

The rapid progression of the COVID-19 pandemic around the world reveals the current limits of our virological diagnostic capacities by RT-PCR, hence the interest in highlighting the place of immunological tests in the diagnosis of COVID-19 .

Our evaluation aims to define the performance and place of serological tests: ELISA and CLIA, in the management of COVID-19 disease by taking RT-PCR as Gold standard.

#### **Materials and methods :**

- ✓ This is a prospective study conducted from January to June 2020 (6 months), on patients diagnosed positive COVID-19 by RT-PCR and hospitalized at HMMI Meknes, and a control group (serum from blood donors ) dating from

the month of November 2019 before the pandemic to assess the specificity of the ELISA (41 cas) and CLIA (96 cases) serological tests.

### **Results:**

ELISA and CLIA test results:

- ✓ ELISA: on a sample of 31 cases (covid-19) positive by RT-PCR, we found 21 positive cases and 10 negative cases on ELISA.
- ✓ CLIA: on a sample of 82 cases (covid-19) positive by RT-PCR, we found the following results:
  - IgM: 54 positive cases and 28 negative cases.
  - IgG: 32 positive cases and 50 negative cases.

Specificity: for the two tests ELISA AND CLIA no false positive was observed, however a percentage  $\geq 90\%$  was detected for the ELISA test, and  $\geq 93\%$  for the CLIA, because the non-significance of case-control samples does not exceed about thirty cases.

The sensitivity of serological tests is too low during the first week following the onset of symptoms for them to play a primary role in the diagnosis of COVID-19, with a percentage of 11.11% for all AC for ELISA and (13.63% IGM / 4.54% IGG) for CLIA.

From the first week, the sensitivity increases with a percentage of 90.91% for the ELISA test and (88.23% IGM) for the CLIA test, the latter objectified a relative stability of the sensitivity of IGMs (80, 76%) and a peak in IGG (88.46%) when the time between the onset of symptoms and the blood sample exceeds 15 days.

### **Discussion and conclusion:**

The results of our study are consistent with those of the literature: the sensitivity rates of serological tests of the ELISA type for IgG, IgM or IgG and IgM varied between 77 and 97%, while for CLIA they varied between 48 and 100 % from the

second week. The reported specificity rates were of the same order between serological tests such as ELISA and CLIA (90 to 100%).

According to our study, the role of serological tests is not significant during the acute phase of the disease, but it retains its place in the management of COVID-19 from the second week of exposure.

The possible indications for serological testing according to our assessment are as follows:

- ✓ symptomatic patient only if no RT-PCR or if negative RT-PCR associated with a strong suspicion of Covid-19 and after 14 days from the onset of symptoms.
- ✓ Asymptomatic subject only if no RT-PCR, after 20 days of exposure

## ملخص:

العنوان: مكانة الأمصال في التشخيص الإيجابي لكوفيد 19 ، (التقييم الأولي لقسم الأحياء بالمستشفى العسكري مولاي إسماعيل) مكناس

تأليف: بوشليخ أمل

الكلمات الرئيسية: كوفيد19 ، وباء ، الاختبارات المصلية ، RT-PCR ،

كوفيد -19 (مرض فيروس كورونا 2019) هو مرض فيروسي ثانوي الإصابة بفيروس ينتمي إلى عائلة كورونا فيغيداي مؤخرًا اكتشف في ديسمبر 2019 في مدينة ووهان في الصين ، وأطلق عليه (الالتهاب الرئوي الحاد الناجم عن فيروس كورونا 2). انتشرت هذه العدوى بعد ظهورها بسرعة على الصعيد الدولي ، وكانت مسؤولة عن عواقب وخيمة ، حيث تسببت في أعداد كبيرة من المصابين ووفيات ، فضلاً عن عواقب اجتماعية واقتصادية سلبية.

لذلك ، دقت منظمة الصحة العالمية ناقوس الخطر في 11 مارس 2020 بإعلانها مرض كوفيد -19 وباء عالمي. يكشف التطور السريع لوباء الكوفيد في جميع أنحاء العالم عن الحدود الحالية لقدراتنا على التشخيص الفيروسي المباشر بواسطة ، ومن ثم الاهتمام بإبراز مكان الاختبارات المناعية 19 في تشخيص الكوفيد.

يهدف تقييمنا إلى تحديد أداء ومكان الاختبارات المصلية: ELISA , CLIA ، في إدارة مرض الكوفيد19 من خلال أخذ-RT PCR كمعيار ذهبي .

### المواد والطرق

هذه دراسة استباقية أجريت في الفترة من يناير إلى يونيو 2020 ، على المرضى الذين تم تشخيص إصابتهم بفيروس كوفيد 19 بواسطة RT-PCR وتم نقلهم إلى المستشفى العسكري مولاي إسماعيل مكناس ، ومجموعة المراقبة (الأمصال من المتبرعين بالدم) التي يرجع تاريخها إلى شهر نوفمبر 2019 قبل الجائحة. لتقييم خصوصية اختبارات : ELISA , CLIA لقسم الأحياء بالمستشفى العسكري مولاي إسماعيل وحدة البيولوجيا الجزيئية والسلامة الحيوية.

### النتائج

نتائج اختبار ELISA و CLIA

ELISA: على عينة من 31 حالة (covid-19) إيجابية بواسطة RT-PCR ، وجدنا 21 حالة إيجابية و 10 حالات سلبية على ELISA.

CLIA : في عينة مكونة من 82 حالة (covid-19) إيجابية بواسطة RT-PCR ، وجدنا النتائج التالية لاختبار: CLIA IgM: 54 حالة إيجابية و 28 حالة سلبية.

IgG: 32 حالة إيجابية و 50 حالة سلبية.

الخصوصية: بالنسبة لاختباري ELISA و CLIA ، لم يتم ملاحظة أي نتائج إيجابية خاطئة ، وبالتالي كانت خصوصية الاختبارين 100٪.

كانت حساسية الاختبارات المصلية منخفضة جدًا خلال الأسبوع الأول بعد ظهور الأعراض ، بحيث لا تلعب دورًا أساسيًا في تشخيص الكوفيد 19 ، بنسبة 11.11٪ لجميع مضادات الاجسام ELISA و (3.63٪ IGM / 4.54 IGG : CLIA من الأسبوع الأول ، زادت الحساسية بنسبة 90.91٪ لاختبار و (88.23٪) لاختبار ، وقد أظهر الأخير ثباتًا نسبيًا لحساسية IGM (80 ، 76٪) IGG (88.46٪ عندما يتجاوز الوقت بين ظهور الأعراض وعينة الدم 15 يومًا.

#### المناقشة والاستنتاج

تتفق نتائج دراستنا مع نتائج الأدبيات ؛ تفاوتت معدلات حساسية الاختبارات المصلية لنوعو بين الدراسات بين 77 و 97٪ ELISA ، بينما تراوحت بين 48 و 100٪ في CLIA . كانت معدلات الخصوصية المذكورة في هذه الدراسات من نفس الترتيب بين الاختبارات المصلية مثل (90 إلى 100٪) وفقًا لدراستنا ، فإن دور الاختبارات المصلية ليس مهمًا خلال المرحلة الحادة من المرض (من 01 إلى 07 يومًا) ، لكنها تحتفظ بمكانتها في إدارة الكوفيد 19 من الأسبوع الأول من المرض

# BIBLIOGRAPHIE

- (1) : **L. Plaçais, Q. Richier** .Rev Med Interne. 2020 May; 41(5): 308-318. French. Publication en ligne 2020 avr. 17. DOI : 10.1016/j.revmed.2020.04.004 'COVID-19: Clinical, biological and radiological characteristics in adults, infants and pregnant women. An up-to-date review at the heart of the pandemic'
- (2) : **S. ALLIX, C .BATEJAT, P .BINDER, R .COURCOL, JP .DE CAVEL, L. LIANG, et al.** Note de la section Sécurité et Sûreté Biologiques. Avril 2020, Fiche SSB#01
- (3) : **(INESSS) Institut national d'excellence en santé et en services sociaux.** COVID-19 et tests sérologiques. Québec, Qc : INESSS; 2020. 61 p.
- (4) : **Astrid .V , Meriadeg AG** .CHAPITRE38\_CORONAVIRUS\_TVM2019\_repaired .2020
- (5) : **Davenne E, Giot JB, Huynen P.** Coronavirus and COVID-19: focus on a galloping pandemic. Rev Med Liege. avr 2020;75(4):218-25.
- (6) : **OMS** .OVID-19 - Chronologie de l'action de l'OMS [Internet]. 2021 Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news/item/27-04-2020-who-timeline---covid-19>
- (7) : **Astuti I, Ysrafil.** Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev. 1 juill 2020;14(4):407-12.
- (8) : **Tratner I.** SRAS: 1. Le virus. médecine/sciences. août 2003;19(8-9):885-91.
- (9) : **Boopathi S, Poma AB, Kolandaivel P.** Novel 2019 coronavirus structure, mechanism of action, antiviral drug promises and rule out against its treatment. J Biomol Struct Dyn. 30 avr 2020;1-10.
- (10) : **Gupta MK, Vemula S, Donde R, Gouda G, Behera L, Vadde R.** In-silico approaches to detect inhibitors of the human severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel. J Biomol Struct Dyn. 2 avr 2020;0(0):1-11.

- (11) : **Freundt EC, Yu L, Park E, Lenardo MJ, Xu X-N.** Molecular Determinants for Subcellular Localization of the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Open Reading Frame 3b Protein. *J Virol.* juill 2009;83(13):6631–40.
- (12) : **Jerry M. Parks, Ph.D., and Jeremy C. Smith, Ph.D.** The new england journal of medicine (Clinical Implications of Basic Research) , How to Discover Antiviral Drugs Quickly , Elizabeth G. Phimister, Ph.D., Editor
- (13) : **A. Vabret, J. Dina , E. Brison , J. Brouard , F. Freymuth .** Coronavirus humains (HCoV) , *Pathologie Biologie* . 2009 ; 57 : 149-160 ,
- (14) : **Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al.** A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* mars 2020;579(7798):265–9.
- (15) : **Guo Y-R, Cao Q-D, Hong Z-S, Tan Y-Y, Chen S-D, Jin H-J, et al.** The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Mil Med Res.* 13 mars 2020;7(1):11.
- (16) : **Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R.** COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res.* 1 juill 2020;24:91–8.
- (17) : **Pradhan P, Pandey AK, Mishra A, Gupta P, Tripathi PK, Menon MB, et al.** Uncanny similarity of unique inserts in the 2019-nCoV spike protein to HIV-1 gp120 and Gag [Internet]. *Evolutionary Biology*; 2020 janv [cité 17 oct 2020]. Disponible sur: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.01.30.927871>
- (18) : **Xiao C, Li X, Liu S, Sang Y, Gao S-J, Gao F.** HIV-1 did not contribute to the 2019-nCoV genome. *Emerg Microbes Infect.* 14 févr 2020;9(1):378–81
- (19) : **Jamai Amir, I., Lebar, Z., yahyaoui, G. & Mahmoud, M.** Covid-19: virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio2020.* (31) : 15–20 .

- (20) : **Plaçais, L. & Richier, Q.** COVID-19 : caractéristiques cliniques, biologiques et radiologiques chez l'adulte, la femme enceinte et l'enfant. Une mise au point au cœur de la pandémie. 2020 ;(41), 308-318 .
- (21) : **Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F.** Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *J Virol* . 17 mars 2020 [cité 6 sept 2020];94(7). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7081895/>
- (22) : **Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al.** Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*. févr 2020;395(10224):565-74.
- (23) : **Lam TT-Y, Jia N, Zhang Y-W, Shum MH-H, Jiang J-F, Zhu H-C, et al.** Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*. juill 2020;583(7815):282-5.
- (24) : **Geller C, Varbanov M, Duval RE.** Human Coronaviruses: Insights into Environmental Resistance and Its Influence on the Development of New Antiseptic Strategies. *Viruses*. 12 nov 2012;4(11):3044-68.
- (25) : **Chen Z-M, Fu J-F, Shu Q, Chen Y-H, Hua C-Z, Li F-B, et al.** Diagnosis and treatment recommendations for pediatric respiratory infection caused by the 2019 novel coronavirus. *World J Pediatr*. 1 juin 2020;16(3):240-6.
- (26) : **Yeo C, Kaushal S, Yeo D.** Enteric involvement of coronaviruses: is faecal-oral transmission of SARS-CoV-2 possible? *Lancet Gastroenterol Hepatol*. avr 2020;5(4):335-7.
- (27): **Shen K-L, Yang Y-H, Jiang R-M, Wang T-Y, Zhao D-C, Jiang Y, et al.** Updated diagnosis, treatment and prevention of COVID-19 in children: experts' consensus statement (condensed version of the second edition). *World J Pediatr*. 24 avr 2020;1-8.

- (28) : **Kotlyar AM, Grechukhina O, Chen A , et al.** Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis *Am J Obstet Gynecol.* 2021 Jan;224(1):35–53.e3. doi: 10.1016/j.ajog.2020.07.049.
- (29) : **Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B., Zhang L., Zhang W.** A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020;579(7798):270–273
- (30) : **Guan W., Ni Z., Hu Y., Liang W., Ou C., He J.** Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382(18):1708–1720
- (31) : **Huang C., Wang Y., Li X., Ren L., Zhao J., Hu Y.** Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395:497–506
- (32) : **Li H., Liu L., Zhang D., Xu J., Dai H., Tang N.** SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses. *Lancet.* 2020;395(10235):1517–1520.
- (33) : **Remy K.E., Brakenridge S.C., Francois B., Daix T., Deutschman C.S., Monneret G.** Immunotherapies for COVID-19: lessons learned from sepsis. *Lancet Respir Med.* 2020:0
- (33) : **Wang Q., Zhang Y., Wu L., Niu S., Song C., Zhang Z.** Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2. *Cell.* 2020 DOI : 10.1016/j.cell.2020.03.045.
- (34) : **de Wilde A.H., Snijder E.J., Kikkert M., van Hemert M.J.** Host factors in coronavirus replication. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2018;419:1–42.
- (35) : **de Wit E., van Doremalen N., Falzarano D., Munster V.J.** SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14:523–534
- (36) : **Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S.** SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell.* 2020 [S0092867420302294]

- (37) : **Coutard B., Valle C., de Lamballerie X., Canard B., Seidah N.G., Decroly E.** The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res.* 2020;176:104742
- (38) : **Walls A.C., Park Y.-J., Tortorici M.A., Wall A., McGuire A.T., Velesler D.** Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike glycoprotein. *Cell.* 2020;181(2)
- (39) : **Wölfel R., Corman V.M., Guggemos W., Seilmaier M., Zange S., Müller M.A.** Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020  
DOI : 10.1038/s41586-020-2196-x.
- (40) : **Wang X., Xu W., Hu G., Xia S., Sun Z., Liu Z.** SARS-CoV-2 infects T lymphocytes through its spike protein-mediated membrane fusion. *Cell Mol Immunol.* 2020:1-3.
- (41) : **V. Bonny, A. Maillard, C. Mousseaux, L. Plaçais, et Q. Richier** . COVID-19 : la physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages ; 2020 Jun; 41(6): 375-389.
- (42) : **Finlay B.B., McFadden G.** Anti-immunology: evasion of the host immune system by bacterial and viral pathogens. *Cell.* 2006;124:767-782
- (43) : **Vabret N., Britton G.J., Gruber C., Hegde S., Kim J., Kuksin M.** Immunology of COVID-19: current state of the science. *Immunity.* 2020 DOI : 10.1016/j.immuni.2020.05.002.
- (44) : **Stetson D.B., Medzhitov R.** Type I interferons in host defense. *Immunity.* 2006;25:373-381
- (45) : **Commins S.P., Borish L., Steinke J.W.** Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125:S53-S72.
- (46) : **Stephens, D. S. & McElrath, M. J.** COVID-19 and the Path to Immunity. *JAMA* 324, 1279 (2020).

- (47) : **Serologic responses to SARS-CoV-2 infection among hospital staff with mild disease in eastern France.**
- (48): **Aakriti Gupta, Mahesh V. Madhavan, Kartik Sehgal Nandini Nair, Shiwani Mahajan, Tejasav S. Sehrawat.** Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat. Med.* 26, 1017-1032 (2020).
- (49) : **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, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2002032>. NEJMoa2002032.
- (50) : **Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al.** Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 2020:e201585, <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2020.1585>
- (51) : **Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al.** Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med* 2020:e200994, <http://dx.doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>.
- (52) : **Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al.** Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020;395(10229):1054-62.
- (53) : **Li YC, Bai WZ, Hashikawa T.** The neuroinvasive potential of SARS-CoV2 may play a role in the respiratory failure of COVID-19 patients. *J Med Virol* 2020:10, 10.25728. (54) : **Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, et al.** Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol* 2020:10, <http://dx.doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.1127>.

- (54) : **Mao L, Jin H, Wang M, Hu Y, Chen S, He Q, et al.** Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol* 2020;10, <http://dx.doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.1127>.
- (55) : **Alerte-anosmie-covid-19.** <https://www.snorl.org/category-acceslibre/category-actualites/alerte-anosmie-covid-19-20-mars-2020/> Consulté le 12 avril 2020.
- (56) : **Hwang CS.** Olfactory neuropathy in severe acute respiratory syndrome: report of A case. *Acta Neurol Taiwan* 2006;15(1):26-8
- (57) : **Arentz M, Yim E, Klaff L, Lokhandwala S, Riedo FX, Chong M, et al.** Characteristics outcomes of 21 critically ill patients with COVID-19 in Washington State. *JAMA* 2020:e204326, <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2020.4326>.
- (58) : **Wu P, Duan F, Luo C, Liu Q, Qu X, Liang L, et al.** Characteristics of ocular findings of patients with coronavirus disease 2019 (COVID19) in Hubei Province, China. *JAMA Ophthalmol* 2020:e201291, <http://dx.doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2020.1291>
- (59) : **Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al.** Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020;395(10223):507-13.
- (60) : **CORONAVIRUS-COVID-19-Événements** SFD. <https://evenementssfd.fr/coronavirus-covid-19/>. Consulté le 12-avr-2020.
- (61) : **Mellhammar L, Linder A, Tverring J, Christensson B, Boyd JH, Sendi P, et al.** NEWS2 is superior to qSOFA in detecting sepsis with organ dysfunction in the emergency department. *J Clin Med* 2019;8(8):1128.
- (62) : **Mo P, Xing Y, Xiao Y, Deng L, Zhao Q, Wang H, et al.** Clinical characteristics of refractory COVID-19 pneumonia in Wuhan, China. *Clin Infect Dis* 2020, <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa270>.

- (63) : **Tang N, Bai H, Chen X, Gong J, Li D, Sun Z.** Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost* 2020;10, <http://dx.doi.org/10.1111/jth.14817>.
- (64) : **Tétreault Nécolas.** Les multiples façons de dépister la COVID.2021 Janvier 26 , lien : <https://www.biron.com/fr/actualites/sante-a-a-z/les-multiples-facons-de-depister-la-covid-19/>
- (65) : **Mossa-Basha M, Meltzer CC, Kim DC, Tuite MJ, Kolli KP, Tan BS.** Radiology Department Preparedness for COVID-19: Radiology Scientific Expert Review Panel. *Radiology*. août 2020;296(2):E106-12.
- (66) : **Jamai Amir, I., Lebar, Z., yahyaoui, G. & Mahmoud, M.** Covid-19: virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio* 31, 15-20 (2020)
- (67) : **Sébastien Hantz** Laboratoire de bactériologie-virologie-hygiène, Centre de biologie et de recherche en santé François-Denis, CHU Limoges, rue Bernard-Descottes, 87000 Limoges, France, Diagnostic biologique de l'infection à Sars-CoV-2 : stratégies et interprétation des résultats
- (68) : **Lefevre, C., Przyrowski, É. & Apaire-Marchais, V.** Aspects virologiques et diagnostic du coronavirus Sars-CoV-2. *Actual. Pharm.* 59, 18-23 (2020).
- (69) : **Zhao R, Li M, Song H, Chen J, Ren W, et al.** Early detection of SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19 patients as a serologic marker of infection. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America 2020.
- (70) : **Jin Y, Wang M, Zuo Z, Fan C, Ye F, et al.** Diagnostic value and dynamic variance of serum antibody in coronavirus disease 2019. *Intl Journal of infectious diseases* : *IJID* : official publication of the International Society for Infectious Diseases 2020; 94: 49-52.

- (71) : **Bryan A.**, et al. (2020). Performance Characteristics of the Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG Assay and Seroprevalence in Boise, Idaho. *Journal of Clinical Microbiology* 07: 07.
- (72) : **Xiang F, Wang X, He X, Peng Z, Yang B**, et al. Antibody Detection and Dynamic Characteristics in Patients with COVID-19. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2020.
- (73): **WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard** . <https://covid19.who.int>.
- (74) : Ministère de la Santé du Royaume du Maroc, « Bulletin épidémiologique COVID19 numéro 9 du 06/08/2020 », 9, août 2020. [En ligne]. Disponible sur: <http://www.covidmaroc.ma/Pages/SituationCovidAR.aspx>.
- (75) : **CORONAVIRUS STATISTIQUE**, disponible sur le site : <https://www.coronavirus-statistiques.com/stats-pays/coronavirus-nombre-de-cas-maroc/>
- (76) : HAUTE AUTORITE DE SANTE, « Place des tests sérologiques rapides (TDR, TROD, autotests) dans la stratégie de prise en charge de la maladie COVID19» , Validé par le Collège le 14 mai 2020
- (77) : **Brayn A, Pepper G, Wener MH, Fink SL, Morishima C, Chaudhary A**, et al. Performance Characteristics of the Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG Assay and Seroprevalence in Boise, Idaho. *J Clin Microbiol.* 2020 Jul 23;58(8):e00941-20. Doi:10.1128/JCM.00941

أطروحة رقم 21 / 285

سنة 2021

# مكانة الأمصال في التشخيص لكوفيد-19 ( التقييم الأولي لقسم الأحياء بالمستشفى العسكري مولاي اسماعيل بمكناس ) ( بصدد 137 حالة )

## الأطروحة

قدمت و نوقشت علانية يوم 2021/10/27

من طرف

السيدة بوشليخ أمل

المزادة في 1994/02/11 بالراشيدية

## لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

### الكلمات الأساسية

كوفيد-19 - SARS-CoV-2 - وباء - الإختبارات المصلية - ET-PCR - مضادات الأجسام  
الإختبارات المصلية - ELISA - CLIA - التشخيص

### اللجنة

السيد الحسين الوزني ..... الرئيس  
أستاذ في علم الجراثيم

السيد خالد الحمادي ..... المشرف  
أستاذ في علم المناعة

السيد محمد الرامي .....  
أستاذ في علم الطفيليات

السيد محمد السبيطي .....  
أستاذ في علم الجراثيم

السيد علي زينبي .....  
أستاذ في الطب الداخلي

الأعضاء