



Les tests biologiques COVID-19

23 avril 2020

Tests à visée médicale ou épidémiologique

- **Biologie moléculaire :**

- Tests PCR : détection de l'ARN génomique viral par reverse transcription et amplification en chaîne par polymérase quantitative (qRT-PCR). Technique très répandue et efficace, automatisée et disponible en des formats très variés. Elle demande des amorces qui sont choisies dans des régions conservées du génome viral. **La qRT-PCR a une très haute sensibilité et reproductibilité.** Des options sont proposées par BioMérieux, Roche, Qiagen, Novacyt, R-Biopharm. Les problèmes rapportés sont essentiellement dus à **la qualité de l'échantillon** plutôt qu'à la technique elle-même. Un désavantage est que la qRT-PCR n'est pas une technique de détection rapide et a besoin d'une logistique importante (voir ci-dessous : traitement des prélèvements).
- Tests LAMP (« loop-mediated isothermal amplification ») : Méthode pour l'amplification de l'ADN. La RT-LAMP combine la LAMP avec une étape de transcription inverse pour permettre la détection de l'ARN. Contrairement à la qRT-PCR, dans laquelle la réaction est effectuée avec une série de cycles de température alternée, l'amplification se fait à température constante sans besoin de thermocycleur. Elle repose sur l'auto-cyclage de la synthèse d'ADN par déplacement de brin. Les caractéristiques de la LAMP sont la rapidité dans des conditions isothermes, une faible température de réaction (63 à 65°C) et une grande spécificité pour la séquence cible. Ceci est attribuable à la reconnaissance de la séquence cible sur six sites indépendants au cours de la phase initiale et sur quatre sites indépendants au cours des dernières phases. Elle ne nécessite que quatre amorces, une ADN polymérase et un bain-marie ou un bloc thermique de laboratoire ordinaire pour la réaction, ce qui la rend simple à réaliser. LAMP peut donc être un outil simple pour le diagnostic rapide des maladies infectieuses en utilisant des installations très simples et devrait être facilement applicable dans les laboratoires cliniques des pays en développement. Des tests LAMP sont en train d'être mis au point sur le nouveau coronavirus.

- **Détection antigénique :**

Cette approche consiste à détecter la présence d'antigène (souvent une protéine virale dans un prélèvement). Pour l'instant, la sensibilité de la technique n'est pas suffisante pour une implémentation à grande échelle dans le diagnostic direct de la maladie. Un développement récent est décrit dans le lien suivant : <https://www.sinica.edu.tw/en/news/6505>



Les prélèvements

Les échantillons sont prélevés à l'aide d'un écouvillon inséré plusieurs centimètres dans le nez du patient pour atteindre le nasopharynx. Cette opération peut entraîner projections et crises d'éternuements. L'opérateur réalisant ces prélèvements doit ainsi être protégé, équipé de masque, sur-blouse, charlotte et lunettes. Dans d'autres pays (comme l'Allemagne), ces tests se font sur des échantillons de salive, plus faciles à prélever. A ce jour, il n'y a pas eu d'étude comparative sur la fiabilité des différents types de prélèvements. Les échantillons sont par la suite envoyés à un laboratoire en sécurité P2 où ils sont décontaminés par traitement avec un détergent. L'ARN viral est alors extrait par des automates spécifiques. La qRT-PCR peut alors être pratiquée en utilisant des réactifs spécifiques. La réalisation de ces tests nécessite donc une logistique importante.

Tests sérologiques

Ces tests permettent de connaître la séroprévalence de l'infection, c'est-à-dire le pourcentage des personnes qui ont contracté le virus, qu'elles aient développé des symptômes ou pas. Il s'agit de la détection d'anticorps contre le virus dans des prélèvements de sang. Ces tests permettent donc d'identifier les personnes ayant été infectées par le passé. Il existe divers formats, du test unitaire aux plaques de 96 puits. La détection des immunoglobulines M permet d'identifier une infection très récente, alors que les immunoglobulines G perdurent dans le temps. Ces tests peuvent apporter des renseignements sur l'état de protection immunitaire de la population.

Pour le coronavirus, les tests de sérologie détectent essentiellement deux antigènes viraux : la protéine de surface (ou « spike », S), et la nucléoprotéine (N). Les anticorps neutralisants ciblent uniquement la protéine S. La protéine N est très abondante et très immunogénique, et sert de marqueur très sensible d'une infection par le coronavirus, mais les anticorps anti-N ne confèrent pas de protection contre le virus. Des recherches sont en cours pour essayer d'identifier le corrélat entre le taux d'immunoglobulines anti-S et une protection efficace contre le virus. Les tests réalisés jusqu'à maintenant suggèrent que les individus ayant contracté le virus mais avec peu de symptômes ont des taux faibles d'anticorps, contrairement aux patients ayant eu des symptômes graves. Des cas d'aggravation de la maladie médiée par les anticorps anti-SARS-CoV ont été décrits. Davantage de recherches sont nécessaires pour comprendre les causes de ce double rôle de certains anticorps, protecteurs contre le virus et facilitateurs de l'infection de macrophages ou autres cellules présentant des Fcγ récepteurs.

Cette fiche a été conçue et rédigée par la cellule de crise Coronavirus de l'Académie des sciences. Créée à l'initiative de Pascale Cossart, Secrétaire perpétuel de l'Académie, celle-ci réunit des académiciens experts du domaine : Jean-François Bach, Pierre Corvol, Dominique Costagliola, Pascale Cossart (coordinatrice), Patrick Couvreur, Olivier Faugeras, Daniel Louvard, Félix Rey, Philippe Sansonetti, Alain-Jacques Valleron.

Les informations qui figurent sur cette fiche ont été produites collectivement et sont susceptibles d'évoluer. Elles seront éventuellement réactualisées en fonction des avancées des connaissances scientifiques.