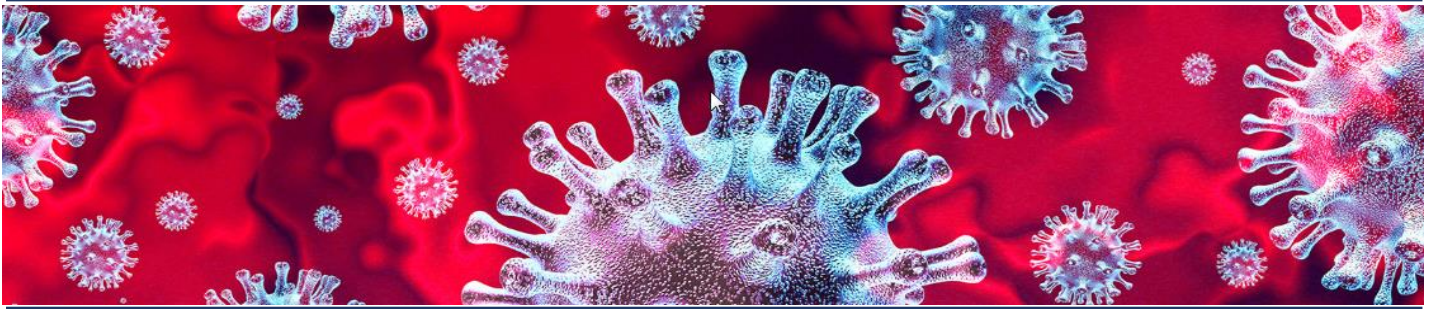


COVID19 : OÙ EN SOMMES NOUS ?



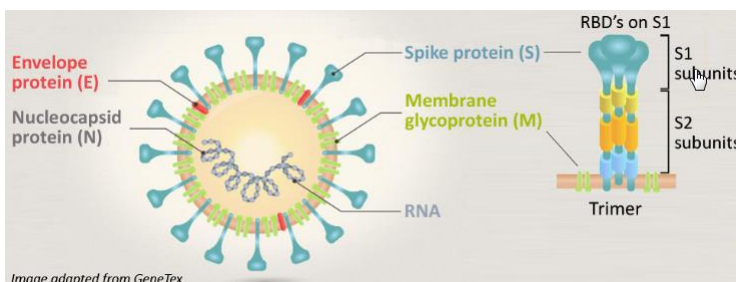
Le laboratoire MGD propose des tests de dépistage par PCR sur frottis nasopharyngé et la sérologie complète quantitative ELISA (IgG et IgM). D'autres tests peuvent être effectués afin de mieux évaluer les facteurs pronostiques. Les prélèvements sont effectués au cabinet ou à domicile, sur prescription médicale, selon les recommandations des autorités sanitaires et les critères de l'OFSP.

1. CONTEXTE

Les CoVs appartiennent à la famille des coronaviridae, divisée en 4 genres : Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Deltacoronavirus et Gammacoronavirus. Chaque genre est subdivisé en plusieurs sous-genres et espèces. Des analyses phylogénétiques ont montré que les chauves-souris et les rongeurs sont les sources de la plupart des Alpha et des Betacoronavirus, alors que les Delta et les Gammacoronavirus sont d'origine aviaire. Les CoVs sont capables de traverser les barrières d'espèces, par des recombinaisons entre deux souches, c'est la raison pour laquelle ils sont devenus des pathogènes humains assez communs, provoquant de simples rhumes ou des affections beaucoup plus graves, voire mortelles, comme les pneumonies (15% des patients) ou les syndromes de détresse respiratoire aigus (5%).

Le SARS-CoV-2 (lignée B) fait partie des Betacoronavirus, comme le SARS-CoV-1 (même lignée B), le MERS-CoV (lignée C) et les HCoV-OC43 et HCoV-HKU1 (lignée A).

Tous les CoVs sont des virus à ARN positif simple brin enveloppés, possédant 4 protéines structurales : nucléocapside (N) la plus abondante, protéine de surface en forme de pointe (Spike:S), une glycoprotéine transmembranaire (M) et une protéine d'enveloppe (E). La protéine S présente 2 sous-unités : S1 (contient le domaine de liaison au récepteur cellulaire RBD receptor binding domain) et S2 (permet la fusion avec la membrane de la cellule infectée).



Le domaine RBD de la protéine S du SARS-CoV-2 a une affinité 10-20 x plus grande pour le récepteur ACE que les autres CoVs. De plus, au moment de la liaison à son récepteur, il existe un mécanisme de clivage de la protéine S par un enzyme de la cellule hôte (furine), qui libère un site de fusion avec la membrane cellulaire, ce qui augmente la capacité du virus à infecter les cellules hôtes (mécanisme utilisé par d'autres virus : HIV, Influenza, dengue, Ebola), ce

qui lui permet une très rapide dispersion de cellule à cellule, de personne à personne et même d'une espèce à une autre (Nature 2020).

Les récepteurs ACE se trouvent dans de multiples organes (ex : endothélium vasculaire, cellules alvéolaires, intestin grêle, cœur et reins).

Le génome des CoVs est le plus grand des virus à ARN (2x celui de la grippe et 3x celui du HIV). Par contre le SARS-CoV-2 possède un mécanisme de réparation performant, ce qui lui donne une stabilité contre les mutations ou les défauts de réplication (expliquant pourquoi des antiviraux classiques ne fonctionnent pas bien avec le SARS-CoV-2) (Nature 2020).

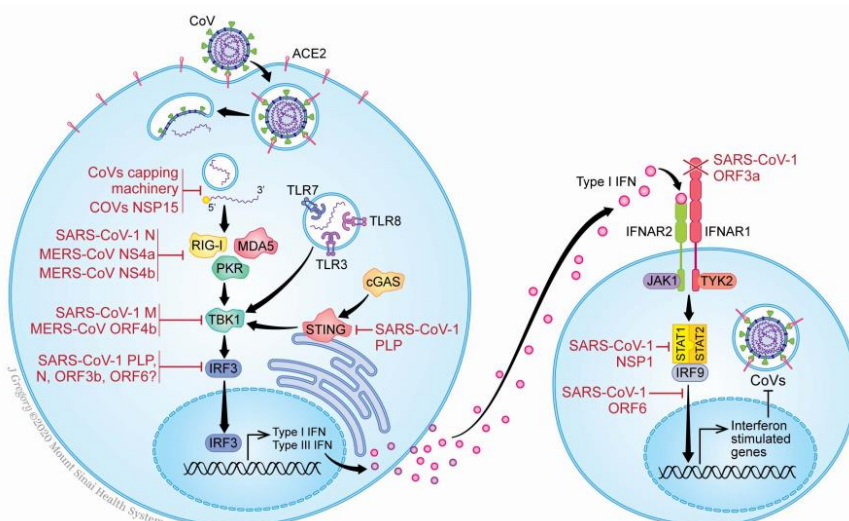
2. IMMUNOPATHOLOGIE

2.1. Immunité innée:

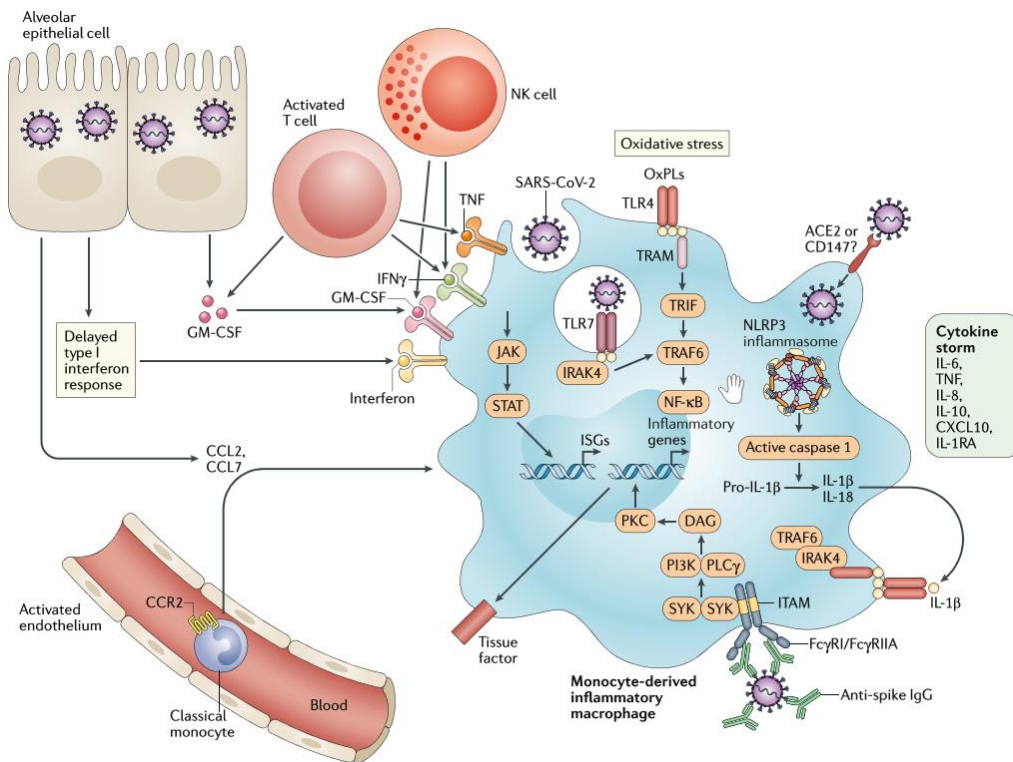
C'est la première (et la meilleure) étape de la réponse immunitaire anti-virale. Les cellules de la réponse innée (cellules dendritiques, monocytes, macrophages, NK) ont des récepteurs (par exemple TLR3, 7 et 8 qui détectent l'ARN simple et double brin). En contact avec un virus, les cellules, suite à l'activation d'une cascade de signalisation intracellulaire, produisent l'interféron de type I, principal déclencheur de l'expression de facteurs anti-viraux tels que la RNaseL, responsable de la dégradation de l'ARN viral ou les cytokines pro-inflammatoires, qui attirent les cellules de la réponse adaptative (lymphocytes B et T). Si la réponse innée n'est pas bien régulée (trop de virus, pas assez de lymphocytes T régulateurs), cela déclenche un orage de cytokines et d'autres dommages systémiques (lymphopénie, infiltration des cellules mononucléaires dans les organes). Les enfants, qui présentent une immunité innée plus efficace, sont mieux protégés contre le SARS-CoV-2.

Le virus SARS CoV-2 a développé des mécanismes pour échapper à la réponse innée :

- Des protéines du coronavirus interagissent à différents niveaux de la cascade de signalisation anti-virale bloquant notamment l'expression de la RNaseL, favorisant dès lors la réplication et la propagation virale.
- La production d'Interféron de type I (α et β) est retardée ou supprimée dans la phase initiale de l'infection. La présence prolongée du virus exacerbe la réponse immunitaire et provoque un épuisement des réponses adaptatives (lymphocytes T CD4, CD8, B et NK), puis une suppression des mécanismes de régulation. Cette suppression pourrait expliquer le degré de transmission virale élevé chez les patients asymptomatiques.



Ces mécanismes de contrôle de la réponse innée permettent le recrutement d'un nombre important de neutrophiles et de monocytes et leur transformation en macrophages inflammatoires (grandes productrices de cytokines pro inflammatoires). L'importance de ce processus est corrélée avec la sévérité des manifestations (Palaga et al, APJAI 2020).



Une expression augmentée du facteur tissulaire au niveau de l'endothélium et des macrophages provoque un processus de coagulation intravasculaire disséminée (CIVD).

Les phospholipides oxydés par les radicaux libres générés lors du processus inflammatoire exagéré ou les anticorps neutralisants liés au virus peuvent également activer ces mécanismes pro inflammatoires.

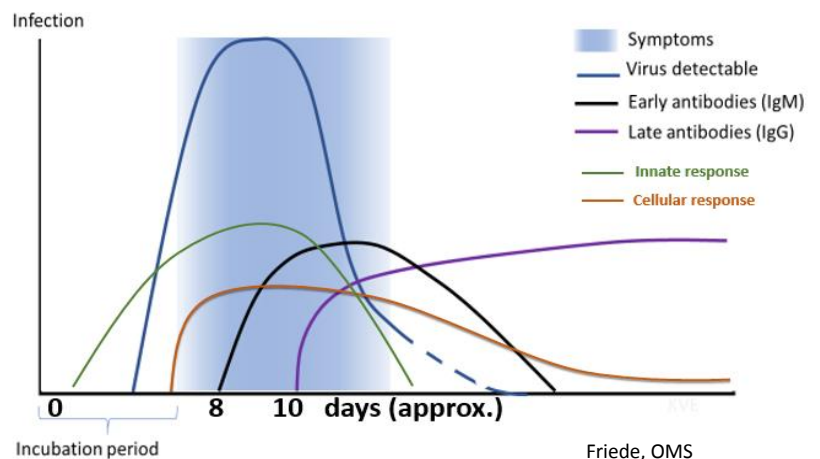
Merad et Martin, Nature 2020

2.2. Immunité adaptative : 2 types de cellules

Les lymphocytes T qui reconnaissent les cellules infectées par le virus SARS Co-V2 qui s'y multiplie.

CD8 cytotoxiques : ces cellules tuent les cellules dans lesquelles le virus se multiplie.

CD4 « helper » : ces cellules fournissent une aide aux cellules productrices d'anticorps (lymphocytes B) et recrutent les cellules immunes au site de l'infection. Une fois le virus disparu, ces cellules diminuent en nombre, mais certaines cellules gardent « la mémoire » et auront la capacité de répondre rapidement si elles rentrent à nouveau en contact avec le même virus, tuant le virus et accélérant la réponse anticorps



Les lymphocytes B produisent des anticorps qui se lient à des parties spécifiques du virus. Parmi la panoplie des anticorps induits, les anticorps neutralisants sont primordiaux car ils sont capables d'empêcher le virus d'entrer dans la cellule. Ces anticorps sont dirigés contre le domaine RBD de la protéine S.

La cinétique d'apparition des anticorps est spécifique de la personne (entre 7 et 28 jours selon les patients, selon les manifestations cliniques également).

L'apparition des anticorps n'est pas un signe que la personne n'est plus contagieuse (certains patients avec des sérologies positives sont encore porteurs du virus au niveau nasopharyngé).

Les anticorps contre le SARS-CoV-2 : amis ou ennemis ?

Alors que, pour la plupart des maladies infectieuses, le développement d'anticorps contre des protéines du pathogène protège de l'infection, cela ne semble pas être le cas pour d'autres. Le HIV, la Dengue et le coronavirus félin utilisent la production d'anticorps antiviraux pour augmenter leur infectivité (antibody dependant enhancement ou ADE).

Pour pénétrer dans la cellule, le SARS CoV-2 se lie non seulement au récepteur ACE₂ mais peut aussi utiliser alternativement des récepteurs Fc (FcR) (récepteurs aux anticorps) et des récepteurs au complément. Certaines études ont montré que l'infectivité du virus était augmentée en présence d'anti-séra dilués et d'anticorps monoclonaux anti-protéine S et que les taux d'expression de mRNA de TNF alpha, d'IL4 et d'IL6 étaient augmentés dans les cellules infectées. Elles ont suggéré que l'anticorps lié au virus interagissait avec son récepteur FcR, ce qui favorisait son entrée dans la cellule. Des anticorps contre différents domaines de la protéine S ont été produits et ont donné des résultats différents. Certains avaient la propriété de bloquer l'infection, d'autres d'augmenter l'infectivité du virus (Wang S. et al. 2014).

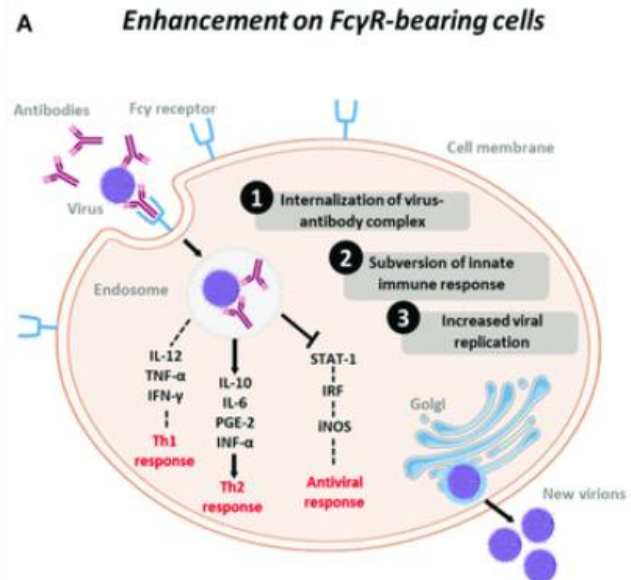
Les patients guéris sont-ils immunisés contre une réinfection avec le SARS-CoV-2 ?

A l'heure actuelle, personne ne sait si la réponse immunitaire développée chez les patients atteints de SARS Co-V2 constitue une protection à moyen ou plus long terme.

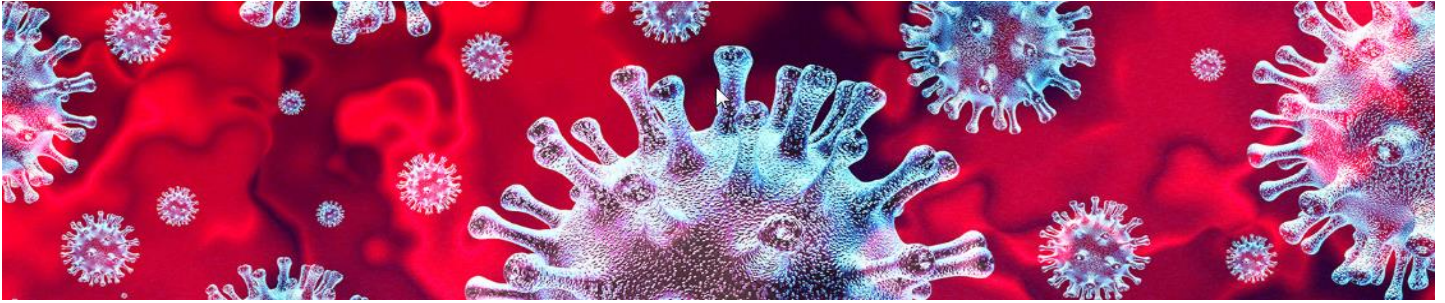
Toutefois, selon des études sur des souches de coronavirus proches du SARS-CoV-2 (229E, OC43, SARS-CoV-1 et MERS-CoV), effectuées entre 1990 et 2016, les épidémiologistes avancent l'hypothèse qu'après avoir été infectées par le SARS CoV2, la plupart des personnes vont développer une réponse immunitaire contre le virus. Chez une partie d'entre elles cette réponse pourrait offrir une certaine protection sur le moyen terme (allant de quelques mois à 2 ou 3 ans). Une réinfection ne serait pas exclue, mais la sévérité des symptômes serait moindre.

Deux études récentes, effectuée sur 173 et 222 patients guéris, mesurant les titres d'anticorps neutralisants contre le SARS Co-V2 ont démontré que ces titres étaient beaucoup plus élevés chez les personnes d'âge moyen (40-59 ans) et plus âgées (60-85 ans) par rapport à la population plus jeune (15-39 ans) (Zhang. et al. 2020, Zhao et al. 2020). Le mécanisme par lequel la population jeune s'est remise de l'infection reste encore à déterminer et pose la question de savoir si cette population est protégée ou non contre une réinfection.

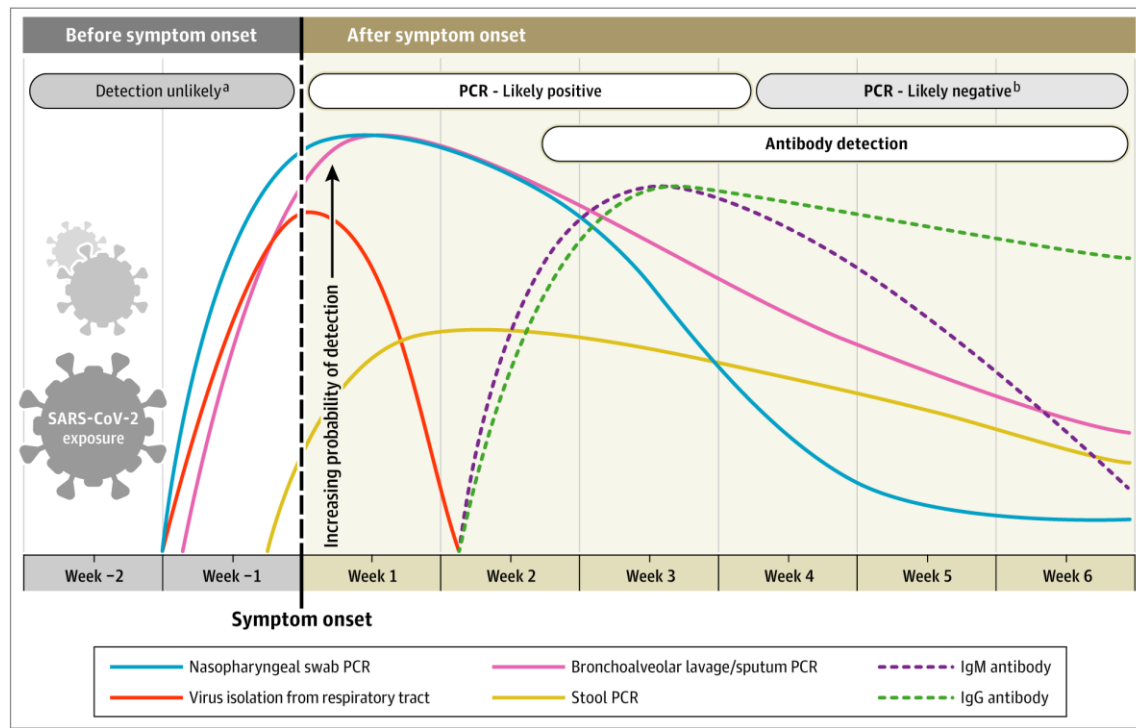
D'autres études ont montré que l'utilisation des anticorps neutralisants, extraits de plasma de convalescents a rapidement amélioré l'état d'autres patients avec des manifestations sévères, mais ces observations doivent être encore validées à plus large échelle (Shen et al, JAMA 2020).



COVID19 : TESTS DE LABORATOIRE



La **période d'incubation** varie de 2 à 14 jours, avec une moyenne de 5 jours. Le virus se multiplie très vite dans la période précoce de l'infection, **souvent asymptomatique**, donc pendant cette période **le virus peut être transmis**.



PCR

Le test le plus fiable pour le diagnostic (spécificité de 100%, pour plusieurs cibles : gène NC, S, env, RdRp, orf1).

Les sensibilités varient en fonction du temps entre le contact et le prélèvement (entre 3 et 5 jours) et le type de matériel (lavage broncho alvéolaire 95%, expectorations 75%, frottis nasopharyngé 65% et frottis de gorge 32%).

La sensibilité peut être augmentée à presque 100% par l'utilisation conjointe de la PCR et des IgM (infection aiguë).

Une PCR positive après plus de 3 semaines signe la présence d'ARN, mais pas forcément du virus entier.

SEROLOGIE

- Identifier les patients ayant été infectés par le passé (surtout les a/pauci-symptomatiques)
- Connaître le statut sérologique des personnes exposées (professionnels de santé)

- Recenser des données épidémiologiques liées au Covid19 (séroprévalence, statut immunitaire dans la population générale, etc)

Les anticorps dosés par ces tests ne sont pas tous neutralisants (seulement ceux contre le RBD-S), mais il y a une bonne corrélation entre les anticorps neutralisants et les taux d'IgG totaux.

Les tests rapides qualitatifs (immunochromatographie) présentent des performances analytiques semblables aux tests ELISA (> 95 % de sensibilité et spécificité). Par contre il n'y a pas de quantification et donc pas d'estimation du taux d'anticorps produits (pour un suivi ou une interprétation sur la protection contre une réinfection).

Protéines cibles recombinantes et homologies de séquence avec d'autres CoVs	Fournisseurs et méthodes en Suisse : Tous CE-IVD	Performances analytiques très bonnes (en fonction des études, des laboratoires et des seuils de décision) (min 15 jours après les symptômes)
Protéine S (S1, S2 et RDB) immunodominante : 76 % avec SARS-CoV1, 35 % avec MERS-CoV, 25-30% avec les autres Alpha et Betacoronavirus	DiaSorin IgG (CLIA) ImmunDiagnostic IgG/A/M séparés (ELISA) Siemens IgG/M combinés (CLIA)	Sensibilité > 96 % Spécificité > 98 % (confirmation des positifs avec une 2 ^{ème} méthode)
Protéine N (anticorps plus précoces) : 90 % avec SARS-CoV1 et 48 % avec MERS-CoV, 25-50% avec les autres Alpha et Betacoronavirus.	Roche IgG/A/M combinés (CLIA) Abbott IgG (CLIA) EpitopDiagnostic IgG/M séparés (ELISA)	Sensibilité > 96 % Spécificité > 98 % (confirmation des positifs avec une 2 ^{ème} méthode)

AUTRES TESTS DE LABORATOIRE

- CRP, Formule sanguine, lymphocytes T (CD4, CD8), NK, B
- Temps de prothrombine (Quick)
- Enzymes: ASAT, ALAT, LDH, CK
- D-Dimères

RENDU DES RESULTATS dans les 24h

- Interprétation des résultats : Tout résultat (négatif ou positif) doit être interprété dans le contexte clinique du patient et en collaboration avec son médecin traitant.
 - Un résultat NEGATIF n'exclut pas une infection récente (moins de 14 voire 21 jours). En cas de forte suspicion d'infection un contrôle dans 2 à 3 semaines est recommandé et une recherche du virus par PCR est indiqué.
 - Un résultat POSITIF est compatible avec une infection par le SARS-CoV2. La présence d'anticorps donne une indication de contact avec le virus, mais nous ne savons pas aujourd'hui si les patients sont protégés contre une réinfection par le SARS-CoV-2.

PRIX DES TESTS (à rajouter la prise en charge administrative de CHF 24)

- Dépistage par PCR du Coronavirus COVID-19 seul : CHF 95 (pris en charge par l'assurance de base selon les critères de l'OFSP)
- Sérologie complète quantitative ELISA IgG + IgM : CHF 37 (**entièrement à la charge du patient**)

Renseignements : Laboratoire MGD : 022 309 15 20 ou info@labomgd.ch ou www.labomgd.ch Bibliographie sur demande