

## **Le Virus SARS-Cov-2, son origine, sa transmission, les tests PCR, le test sérologique**

### Table des matières

1.	Définition d'un virus.....	2
2.	Le virus SARS-CoV-2 .....	2
3.	Origine et cycle de transmission du SARS-CoV-2 .....	4
4.	Voies d'entrée du SARS-CoV-2 dans le corps humain : contamination .....	6
5.	Multiplication du SARS-CoV-2 dans les cellules infectées humaines : la réplication.....	8
6.	Les paramètres de l'épidémie.....	10
7.	Le dépistage par prélèvement nasal et PCR : la mesure de la charge virale .....	11
8.	Le dépistage par prélèvement salivaire et PCR : la mesure de la charge virale dans des conditions moins contaminantes et plus faciles .....	13
9.	Le dépistage par test antigénique : encore à l'étude .....	14
10.	La recherche des anticorps anti-SARS-CoV-2 dans le sang : connaitre son immunité contre la COVID-19.....	14

## 1. Définition d'un virus

Un virus est un agent infectieux incapable de croître et de se diviser seul. Pour sa reproduction/propagation, un virus<sup>1</sup> est totalement dépendant des cellules de ses hôtes. En effet, un virus doit pénétrer dans des cellules et détourner la machinerie de ces cellules hôtes à son profit pour synthétiser ses protéines et pour se répliquer (se reproduire). Les virus nouvellement formés dans la cellule hôte, ou virions, sortent de la cellule hôte et infectent à leur tour d'autres cellules et ainsi de suite. Toutes les espèces vivantes sont infectées par des virus. Il existerait 10<sup>35</sup> types de virus sur la planète terre.

Il existe de nombreuses familles de virus qui se différencient par la nature de leur génome ou patrimoine génétique. Certains ont un génome sous forme d'ADN (acide désoxyribonucléique), d'autres sous forme d'ARN (acide ribonucléique). Le SARS-CoV-2 est un virus à ARN. Ce matériel génétique est protégé par une coque appelée capside. Certains virus comme le SARS-CoV-2 ont en plus une enveloppe lipidique autour de la capside.

En résumé, la vie d'un virus consiste à entrer dans les cellules d'un animal ou d'un végétal, s'y multiplier en très grand nombre, épuiser les ressources de la cellule, et en sortir pour se propager en infectant d'autres cellules. Certains virus provoquent la destruction des cellules infectées, des tissus infectés, engendrant des maladies pouvant aller jusqu'à la mort. Un virus qui détruit tous ses hôtes (100% de mortalité) finit par ne plus exister, faute de support pour se multiplier. Un virus bien adapté à son hôte se multiplie efficacement sans causer trop de tort. C'est le cas des coronavirus qui cohabitent avec les chauves-souris depuis des milliers d'années. Il y a aussi des coronavirus qui existent dans les populations humaines depuis très longtemps (nommés OC43, HKU1) et qui donnent seulement des rhumes. Dans le cas des dernières infections mortelles par des coronavirus (SARS-CoV-1, MERS-CoV, ou SARS-CoV-2<sup>2</sup>), l'homme est un hôte accidentel et les pourcentages de mortalité chez cet hôte varient suivant les coronavirus.

## 2. Le virus SARS-CoV-2

Le SARS-CoV-2 est le nom du Coronavirus responsable de la maladie COronaVirus Disease 2019 ou la COVID-19.

Les coronavirus sont une famille de virus à ARN qui infectent de nombreux animaux vertébrés. Ils doivent leur nom à leur enveloppe en forme de couronne (corona) qui est constituée d'une membrane

---

<sup>1</sup> Le mot virus désigne l'agent infectieux sous la forme de particules. Les cellules modifiées après infection sont parfois appelées provirus. On utilise le mot virion pour désigner la particule virale produite par bourgeonnement.

<sup>2</sup> Le SARS-CoV-1 est le coronavirus du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère de type 1 responsable du SRAS ou syndrome respiratoire aigu sévère apparu en 2003

Le MERS-CoV est le coronavirus responsable du MERS ou Middle East Respiratory Syndrome apparu en 2012

Le SARS-CoV-2 est le coronavirus du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère de type 2 responsable de la COVID-19 ou COronaVirus Disease 2019

lipidique (graisses) et de protéines en forme de pic (spicules ou spikes en anglais) insérées dans cette membrane (Fig. 1). Ils sont très répandus chez les chauves-souris mais on peut les trouver aussi chez d'autres mammifères comme les humains et les baleines mais aussi chez les oiseaux. Chez l'homme, ils sont le plus souvent responsables d'infections modérées des voies respiratoires comme le rhume mais peuvent aussi provoquer des détresses respiratoires sévères avec des complications qui peuvent entraîner la mort.

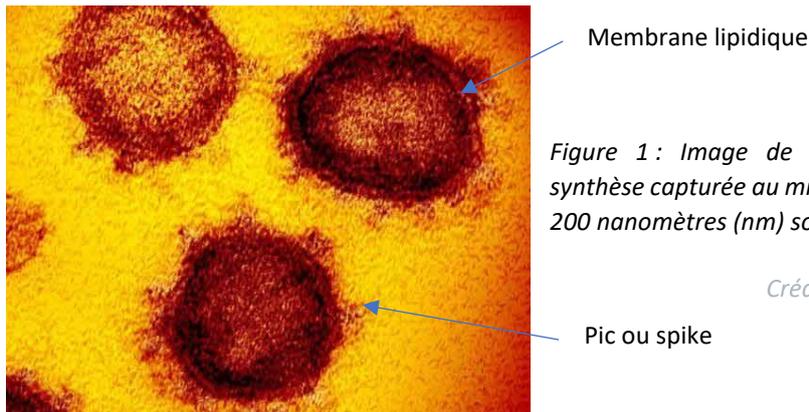


Figure 1 : Image de coronavirus avec une coloration de synthèse capturée au microscope électronique ; diamètre = 50-200 nanomètres (nm) soit 0.05 à 0.2 micromètres (μm).

Crédit photo : NIAID-NIH/PHANIE

Le savon dissout les graisses (ou lipides). Il dissout par conséquent la membrane lipidique du virus, ce qui explique pourquoi le lavage des mains au savon pendant 30 secondes environ permet de se débarrasser du virus. L'alcool du gel hydro-alcoolique dissout également les graisses mais peut abîmer la peau en cas d'utilisation trop répétée. Il ne faut pas non plus utiliser de gel lors d'exposition au soleil.

Le SARS-CoV-2 mesure en moyenne 120 nanomètres (nm) de diamètre et, comme tous les virus, il est invisible à l'œil nu. A titre de comparaison 100 nm c'est 300 fois plus fin que l'épaisseur d'un cheveu. Il faut un microscope puissant, comme un microscope électronique, pour en avoir une image (Fig. 1).

Le SARS-CoV-2, comme tous les coronavirus, est un virus enveloppé, c'est-à-dire entouré d'une enveloppe, et il a pour génome un ARN simple brin. Cet ARN code pour la synthèse de 4 protéines responsables de la structure du virus (Fig. 2), et pour 16 protéines non structurales impliquées dans la réplication du virus.

Les quatre protéines structurales sont les protéines S (spicule), E (enveloppe), M (membrane), et N (nucléocapside<sup>3</sup>) (Fig. 2). La protéine Spicule est celle qui permet au virus de s'accrocher au récepteur ACE2<sup>4</sup> présent à la surface de la membrane de la cellule hôte humaine, d'y entrer et de l'infecter (voir Fig. 5). Ainsi la spicule est la clé qui permet de se fixer à la serrure (protéine ACE2) et ainsi d'entrer dans les cellules qui expriment ce récepteur.

<sup>3</sup> La capsid est la structure qui entoure le génome du virus, ici l'ARN. La nucléocapsid est l'ensemble formé par la capsid et le génome viral.

<sup>4</sup> ACE2 ; angiotensin converting enzyme 2, est une protéase cellulaire membranaire qui dégrade l'angiotensine II en angiotensine 1-7 et régule ainsi négativement le système rénine-angiotensine.

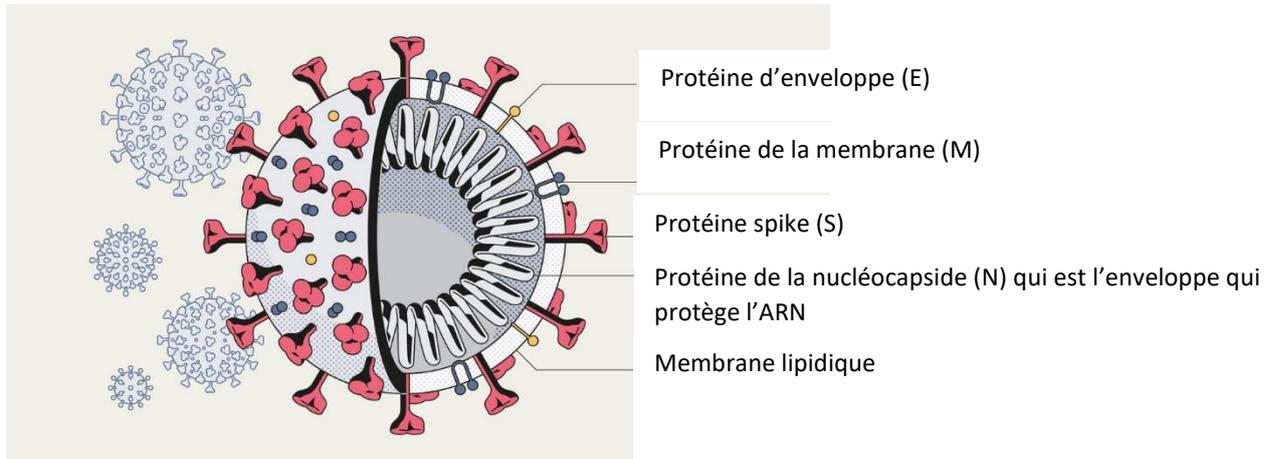


Figure 2 : représentation schématique du coronavirus SARS-Cov-2 (crédit Manuel Bortoletti)

### 3. Origine et cycle de transmission du SARS-CoV-2

Différents coronavirus sont apparus lors des vingt dernières années : le SARS-CoV-1<sup>5</sup> en 2003, le MERS-CoV<sup>6</sup> en 2012, et le SARS-CoV-2<sup>7</sup> en 2019. Les chauves-souris sont les animaux réservoirs de ces coronavirus. Les chauves-souris sont des mammifères volants. Elles représentent le quart des espèces de mammifères connues et comptent près de 1000 espèces. On parle des chauves-souris comme réservoirs naturels des coronavirus car ces virus se reproduisent dans leurs cellules, de façon continue, sans les rendre malades. Le système immunitaire des chauve-souris est si efficace que, pour survivre, le coronavirus se reproduit dans leurs cellules à très grande vitesse.

Les coronavirus se transmettent de la chauve-souris à l'homme en général via un hôte intermédiaire : le SARS-CoV-1 (virus responsable du SRAS) a pour hôte intermédiaire la civette palmée, et le MERS-CoV (virus responsable du MERS) a pour hôte intermédiaire des camélidés (comme le chameau). Le SARS-CoV-1 n'est pas réapparu chez l'homme. Des virus proches sont en revanche toujours présents chez leurs hôtes intermédiaires. Par exemple, le MERS-CoV persiste chez le chameau, est retransmis sporadiquement chez l'homme, puis disparaît de nouveau.

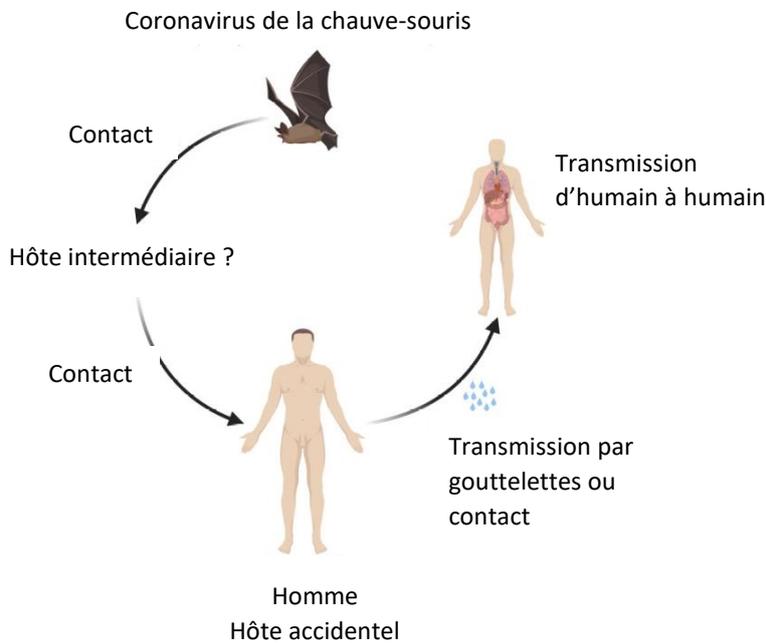
Pour le SARS-CoV-2, il reste des incertitudes. Son génome est à 96% identique avec celui du virus de la chauve-souris Bat RATG13. Il se serait transmis à l'homme directement ou bien via un hôte intermédiaire qui pourrait être le pangolin. L'hypothèse pangolin est venue du fait que le virus SARS-CoV trouvé chez le pangolin et le SARS-CoV-2 qui circule entre les humains ont une homologie de séquence (à 99%) dans la petite partie du génome qui code pour la protéine S (spicule). Le restant du génome est plus proche de celui du virus Bat RATG13 de la chauve-souris. L'hypothèse actuelle est que

<sup>5</sup> Le SARS-CoV-1 est le coronavirus du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère de type 1 responsable du SRAS ou syndrome respiratoire aigu sévère

<sup>6</sup> Le MERS-CoV est le coronavirus responsable du MERS ou Middle East Respiratory Syndrome

<sup>7</sup> Le SARS-CoV-2 est le coronavirus du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère de type 2 responsable du COVID-19 ou COroNaVirus Disease 2019

le virus SARS-CoV-2 est issu d'une recombinaison entre les deux virus. Cette recombinaison est possible dans des hôtes infectés par les deux virus.



*Figure 3 : Diagramme de transmission du SARS-CoV-2 (Image source: Rohan Bir Singh, MD; Made with Biorender.com)*

Pour infecter tout d'un coup des humains il faut trois conditions : (1) que le virus devienne capable d'entrer dans des cellules humaines, (2) que des humains soient en contact direct avec les animaux vivants qui sont les hôtes du virus et (3) que le virus se transmette efficacement d'homme à homme.

Pour devenir capable d'entrer dans des cellules humaines il faut que petit à petit au cours des mutations de son génome, un type de SARS-CoV exprime par hasard une clé (une protéine de surface) adaptée pour ouvrir une serrure de la cellule humaine (une protéine réceptrice) et y entrer. C'est ainsi que le virus issu d'un hôte intermédiaire va pouvoir être transmis d'homme à homme (Fig. 3). Encore faut-il que les humains côtoient des chauves-souris vivantes de très près ou l'hôte intermédiaire vivant de très près. La COVID-19, comme le SRAS et le MERS, sont des zoonoses c'est-à-dire une maladie dont l'agent infectieux (par exemple le SARS-CoV-2) se transmet naturellement d'animaux à êtres humains.

Pour plus d'information sur les zoonoses écouter l'émission de France Culture avec le Pr Gilles Boeuf : <https://www.franceculture.fr/player/export-reecouter?content=1eca051d-ddf5-4349-bb8e-79de1b81373d>

#### 4. Voies d'entrée du SARS-CoV-2 dans le corps humain : contamination

La transmission d'homme à homme se fait par contact direct ou par voie aérienne via des gouttelettes qui peuvent être des postillons ou des aérosols.

Les postillons sont des gouttelettes de taille supérieure à 300  $\mu\text{m}$  (micromètres). Ils sont émis lorsqu'une personne parle, tousse, ou éternue. Ils sont directionnels. Le port du masque évite de projeter nos postillons sur les autres.

Les aérosols ont une taille inférieure à 50  $\mu\text{m}$ . Ils flottent dans l'air, sont brassés par la clim et sédimentent lentement. Ils sont non directionnels. La fréquente aération des pièces permet d'en diminuer l'impact.

La distanciation physique évite les contaminations par contact direct et par postillons.

La peau saine étant une barrière imperméable au virus, le virus SARS-CoV-2 entre dans le corps humain par la bouche, le nez et les yeux. En effet, ces cavités sont tapissées de muqueuses qui sont en permanence humidifiées et relativement perméables et des cellules de ces muqueuses expriment le récepteur reconnu par le SARS-CoV-2, appelé récepteur ACE2.

Quand une personne infectée par un coronavirus éternue ou tousse, des gouttelettes de sécrétions nasales ou bronchiques chargées de particules virales sont projetées autour d'elle. Si une personne est atteinte par ces projections au niveau du visage, le virus pénètre dans ses cellules nasales, buccales ou de l'œil et elle est contaminée (Figs 3 et 4). Une personne peut aussi se contaminer en touchant, son nez, sa bouche ou ses yeux<sup>8</sup> avec ses mains ou ses gants, après avoir touché une surface qui comporte du virus. Il y a également des évidences de transmission par aérosol, et ce mode de contamination est beaucoup plus difficile à maîtriser car le virus se propage sur de longues distances dans l'air.

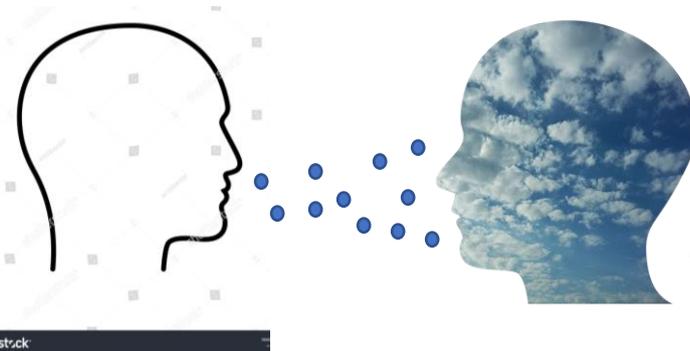


Figure 4 : transmission de coronavirus entre humains par des postillons (absence de distanciation physique)

à gauche image Shutterstock, à droite Source : <https://pngimage.net/visage-profil-png-7/>

<sup>8</sup> La muqueuse oculaire, ou conjonctive, est une structure transitionnelle entre la peau et l'épithélium de la cornée. Transparente, elle tapisse la face postérieure des paupières qui se réfléchit sur la face antérieure de l'œil.

Au niveau des muqueuses, le coronavirus se fixe et entre dans des cellules grâce à sa protéine spike (S) qui reconnaît la protéine ACE2 des cellules humaines (Fig. 5). ACE2 est un sigle qui signifie enzyme de conversion de l'angiotensine 2. Le SARS-CoV-2 peut entrer dans toutes les cellules qui expriment le récepteur ACE2. Ce récepteur est très présent dans la membrane de beaucoup de cellules humaines comme les cellules des muqueuses du visage, les cellules du poumon, du cœur, du foie, du rein, de l'intestin, etc. Pour être infectées, les cellules doivent également exprimer une protéase (TRMPSS2 ou furine) qui coupe la protéine S, une étape essentielle pour permettre au virus d'entrer dans la cellule.

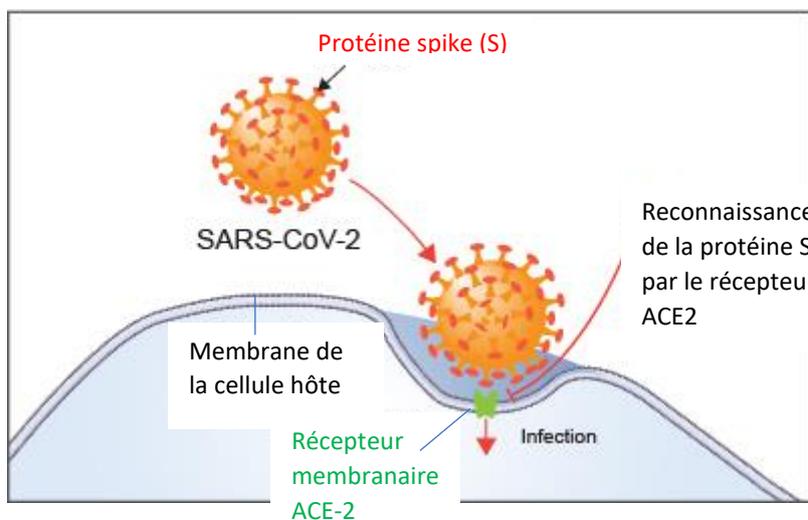


Figure 5 : Schéma montrant de façon simplifiée la reconnaissance entre le SARS-CoV-2 et une cellule humaine exprimant le récepteur ACE2

(<https://www.rndsystems.com/resources/articles/ace-2-sars-receptor-identified>)

Le port du masque et de lunettes fait barrière entre les postillons et le nez, la bouche, ou les yeux d'autres personnes et fait barrière entre ses propres mains (ou ses gants) et son visage (notamment les muqueuses, voie d'entrée du virus). De ce fait, masque et lunettes protègent d'une infection par le SARS-CoV-2. Mais il faut éviter de les toucher une fois en place. Lorsqu'ils sont en tissu (le mieux est trois couches, deux couches de tissu et une couche intissée filtrante au milieu), il faut les laver au savon pour pouvoir les réutiliser.

Suivant le type de masque, est-ce que cette protection est 100% efficace sachant que le virus est nanoscopique et peut passer entre les fils du tissu ? En effet les virus sont si petits qu'il est difficile de les filtrer par effet de tamis. Il faudrait un tissu ou un intissé tellement dense qu'il ne permettrait pas de respirer à travers. La solution trouvée pour les masques maison est de superposer les couches de tissu avec au milieu une couche filtrante non tissée (microfibres de polypropylène par exemple) car lorsqu'une très petite particule rencontre une fibre, elle s'y colle. La multitude de fibres non tissées multiplie les chances de collision avec les virus, donc augmente l'efficacité du filtre.

Le lavage des masques en tissu à 60°C a été préconisé non pas pour se débarrasser du virus, car le savon est très efficace à température ambiante, mais pour tuer les bactéries de sa propre sphère buccale qui s'accumulent dans le masque au fur et à mesure de son usage.

## 5. Multiplication du SARS-CoV-2 dans les cellules infectées humaines : la réplication

L'ARN du SARS-CoV-2, une fois présent dans la cellule animale, utilise la machinerie de cette cellule pour se répliquer et ainsi fabriquer une multitude de virions. Il s'agit de :

- Synthétiser l'enzyme (une protéine) qui permet de copier de nombreuses fois son ARN (l'ARN polymérase) qui se retrouvera dans les nouveaux virions (réplication de l'ARN)
- Fabriquer les protéines des nouveaux virions (traduction de l'ARN)
- Entourer chaque virion d'une membrane lipidique prise de la membrane de la cellule infectée

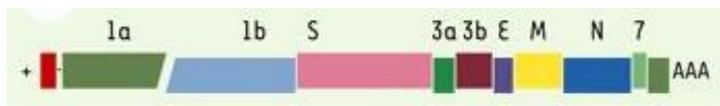


Figure 6 : Structure schématique de l'ARN génomique d'un coronavirus prototype qui code pour les protéines d'enveloppe (S, E, M) et de nucléocapside (N) ainsi que pour des protéines non structurales (parties 1a, 1b) comme l'ARN polymérase qui permet de copier l'ARN (réplication). Les gènes accessoires (3, 7...) ont des fonctions différentes suivant les coronavirus. D'après Enjuanes L, Sola I, Almazan F, et al. Coronavirus derived expression systems. *J Biotechnol* 2001; 88: 183-204.

Grâce à la machinerie de la cellule hôte, toutes les protéines du virus sont fabriquées par la cellule infectée. Ainsi de nouveaux virions sont formés, chacun contenant les 4 protéines de structure (E, M, S, N), une membrane lipidique et un ARN génomique (Figs 6 et 7). Une fois constitués, les virions sortent de la cellule (Fig.7) créent un dommage pour cette cellule hôte et peuvent aller en infecter d'autres, se multiplier de nouveau et créer de nouveaux dommages.

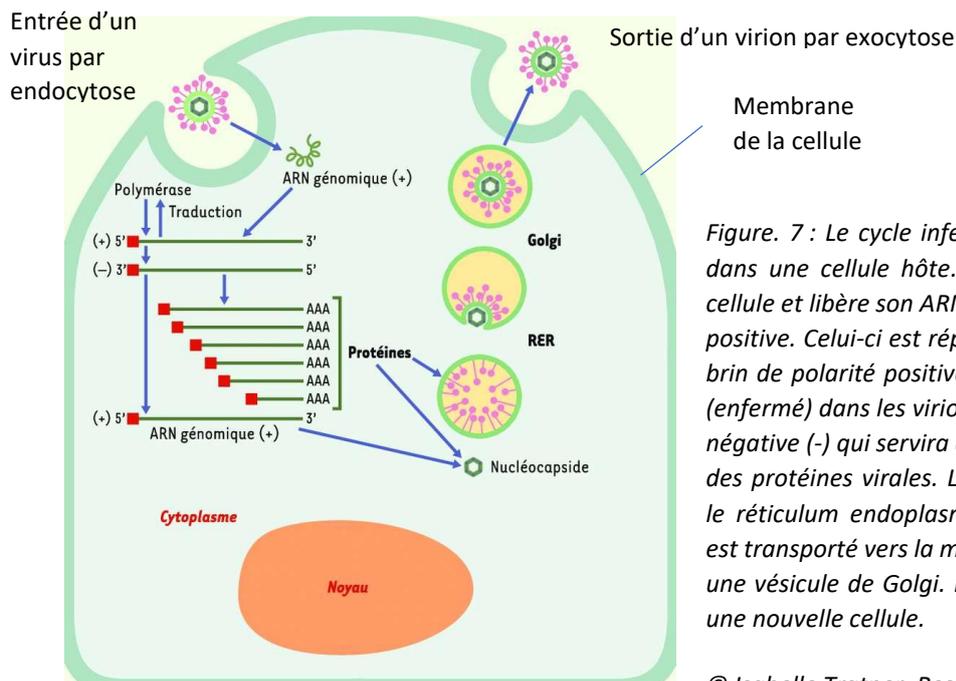


Figure. 7 : Le cycle infectieux d'un coronavirus dans une cellule hôte. Le virus entre dans la cellule et libère son ARN génomique de polarité positive. Celui-ci est répliqué en deux brins : un brin de polarité positive (+) qui sera encapsidé (enfermé) dans les virions et un brin de polarité négative (-) qui servira de matrice à la synthèse des protéines virales. Le virus s'assemble dans le réticulum endoplasmique rugueux (RER) et est transporté vers la membrane plasmique par une vésicule de Golgi. Il bourgeonne et infecte une nouvelle cellule.

© Isabelle Tratner, ResearchGate

La [figure 8](#) ci-dessous explique plus précisément la figure 7. L'ARN génomique viral (noté+ est un ARN messager), une fois dans la cellule hôte, permet la fabrication :

- D'une ARN polymérase qui copie cet ARN en un brin complémentaire (noté-) puis encore en un brin complémentaire (noté+) qui sera le génome des futurs virions.
- De ses propres protéines virales par la machinerie cellulaire hôte (ribosomes)

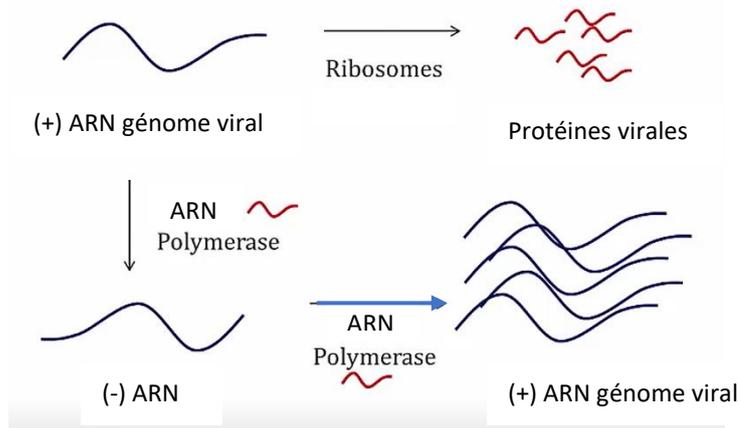
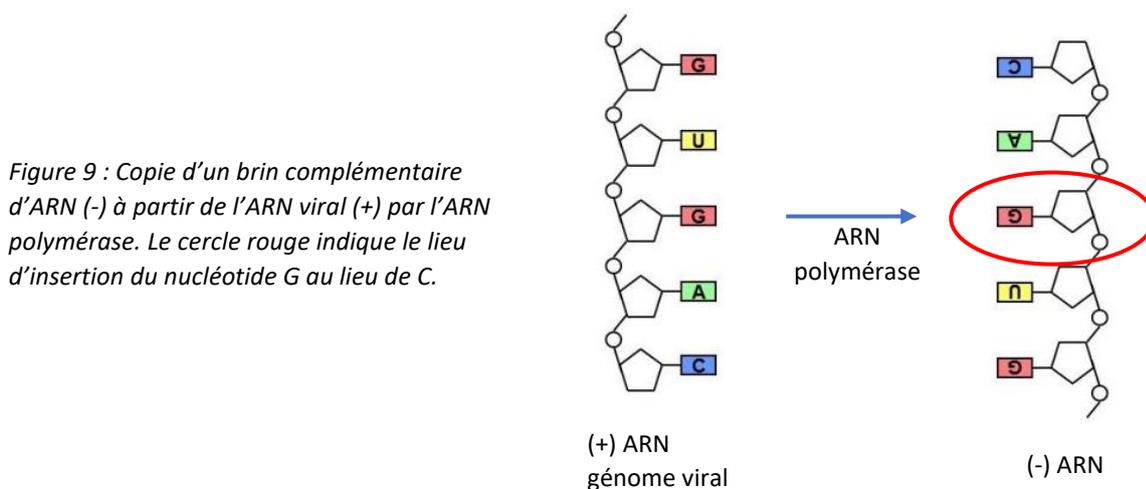


Figure 8

Lorsque l'ARN du virus est copié de nombreuses fois pour former de nouveaux virions, il se produit quelquefois des erreurs de copie c'est-à-dire que l'ARN polymérase insère dans le nouvel ARN un nucléotide à la place d'un autre.

Par exemple, la petite séquence d'ARN viral ci-dessous devrait être copiée en G U C A C (de bas en haut) car les nucléotides complémentaires sont G-C et A-U. Or ici on constate une erreur appelée mutation, puisque la séquence est de bas en haut G U G A C (Fig. 9). Cette mutation se répercutera sur la prochaine copie, où il y aura un C à la place d'un G.



Mais le SARS-CoV est capable de réparer une partie des erreurs de réplication car il fait fabriquer des exonucléases par la cellule hôte, enzymes qui repèrent les erreurs de réplication afin de les éliminer. Ensuite le bon nucléotide peut être intégré à la place. Cela explique pourquoi le SARS-CoV mute peu.

Il arrive cependant qu'il mute puisque qu'il devient capable, à certains moments, d'infecter d'autres cellules que celles de la chauve-souris et notamment, celles de l'homme.

Il est important de surveiller si des mutations susceptibles d'affecter la capacité de réplication et/ou la susceptibilité aux effecteurs immunitaires, apparaissent dans le cadre de la pandémie actuelle. Les chercheurs ont analysé les séquences de SARS-CoV-2 dans la base de données GISAID, qui reçoit chaque jour des centaines de séquences incluant date et lieu du prélèvement (tests PCR). Ils ont ainsi pu suivre une mutation adénine à guanine (A à G) à la position 23,403 du génome de la souche de référence Wuhan, qui aboutit dans la protéine spicule au remplacement de l'acide aminé acide aspartique (D) par l'acide aminé glycine (G), D614G). Cette mutation était rare lorsqu'elle a été identifiée mais depuis elle prédomine globalement, sauf en de rares endroits. De ce fait il semble que cette mutation ait un avantage sélectif pour le SARS-CoV-2 qui serait de lui permettre de fabriquer plus de virions pour chaque cellule infectée<sup>9</sup>.

## 6. Les paramètres de l'épidémie

La **figure 10** est une simulation, c'est-à-dire un modèle prédictif, de la transmission homme-homme du Covid19. La courbe **rouge** indique le pic de l'épidémie. Ce pic apparaît à un moment donné et avec une force et une durée qui dépendent de l'indice de contagion appelé aussi  $R_0^{10}$  ou nombre moyen de personnes qu'une personne malade va contaminer, qui dépend lui-même de la transmissibilité de la maladie ( $\beta$ , qui varie avec le lavage des mains, le port du masque), du nombre de contacts directs entre les humains ( $c$ , qui dépend de la distanciation sociale), et de la durée de la période contagieuse ( $d$ , qui dépend des traitements).  $R_0 = \beta \cdot c \cdot d$

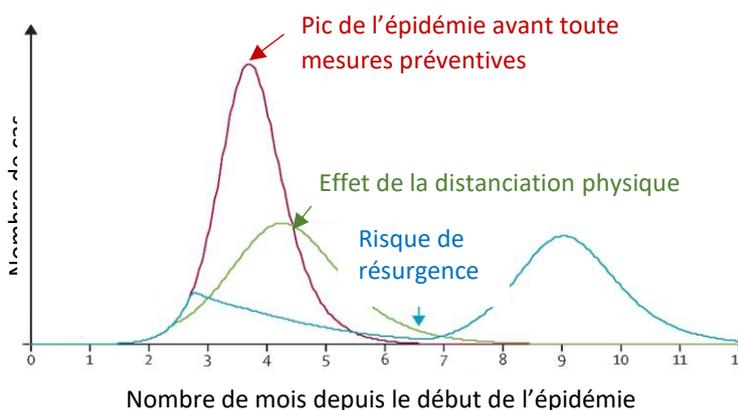


Figure 10 : Comment les mesures adoptées par les états influencent le décours de l'épidémie de la COVID-19  
Anderson et al, The Lancet 2020

<sup>9</sup> Korber B. et al. Tracking changes in SARS-CoV-2 Spike: evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell*. 2020; **182**: 812-27

<sup>10</sup>  $R_0$  ou  $R$  zéro est le nombre moyen de personnes que chaque porteur du SARS-CoV-2 peut infecter. Pour ce virus,  $R_0$  est entre 2 et 3 en l'absence de mesures préventives. Si  $R_0$  est supérieur à 1, le virus va envahir toute la population sensible ; si  $R_0$  est inférieur à 1, l'infection virale va s'éteindre. A titre de comparaison, le  $R_0$  de la rougeole est de 12, celui de la grippe saisonnière de 1,3 et celui du MERS-CoV est inférieur à 1 actuellement.

Dans le cas de la courbe rouge ci-dessus, le nombre de personnes infectées double tous les 4-7 jours.

La courbe verte montre comment les mesures de distanciation entre individus, notamment le confinement, atténuent le pic de l'épidémie. La courbe bleue indique le risque de résurgence de la maladie (2<sup>ème</sup> vague) si les mesures barrières sont levées trop tôt, ou mal levées, ou pas à la bonne saison en cas de virus saisonnier. Pour que l'épidémie s'atténue puis s'arrête, il faut que  $R_0$  devienne inférieur à 1. Par exemple si  $R_0 = 0.5$ , il faut au moins deux personnes infectées pour en contaminer une autre.

Ce schéma montre pourquoi, en l'absence de tout traitement efficace, le confinement en diminuant fortement les contacts entre humains, atténue le pic c'est-à-dire le nombre de personnes infectées et pourquoi un déconfinement doit inclure des mesures barrières. Ces mesures incluent non seulement le lavage des mains, le port du masque et la distanciation physique mais aussi l'isolement (auto-isolement) immédiat des personnes aux premiers symptômes ou diagnostiquées COVID positives, avec une durée suffisante de cet isolement afin qu'elles ne soient plus contagieuses (estimée actuellement à 7 jours).

## 7. Le dépistage par prélèvement nasal et PCR : la mesure de la charge virale

La mesure de la charge virale en SARS-CoV-2 est réalisée pour savoir si une personne a contracté, au moment de la mesure, la COVID-19. Il s'agit de repérer le matériel génétique du SARS-CoV-2 c'est-à-dire son ARN. La charge virale d'une personne s'exprime en nombre de copies d'un virus dans un volume de fluide (ici sécrétions nasales ou salive) donné. Il s'exprime généralement en copies par millilitre.

Actuellement, le test dit PCR consiste en un prélèvement qui se fait à l'aide d'un long et mince écouvillon (goupillon) inséré dans le nez. L'échantillon est ensuite analysé par un laboratoire spécialisé afin de rechercher la présence du matériel génétique du coronavirus SARS-CoV-2 et ainsi confirmer le diagnostic de l'infection. Il s'agit d'un test non invasif. Attention, ce test renseigne sur la présence ou non d'une infection par le SARS-CoV-2 mais ne renseigne pas sur une immunité future à ce virus qui demande un autre type de test dit « sérologique » (voir plus loin recherche d'anticorps dans le sang).

Le test PCR peut être négatif car pratiqué trop tôt (pas assez de virus dans les sécrétions nasales) ou trop tard (disparition du virus, par rapport à l'infection) ou bien se situer dans les voies basses respiratoires et être difficilement détectable par écouvillonnage. On parle alors de faux-négatif. Il y aurait 20% à 30% de faux négatifs.

L'analyse en laboratoire des échantillons de sécrétions naso-pharyngées demande aux laborantins de manipuler avec un équipement spécial et sous hotte, pour ne pas se faire contaminer par le virus.

La mesure de la charge virale se fait par qRT-PCR qui signifie réaction de polymérisation en chaîne quantitative en temps réel : l'ARN viral est d'abord transcrit en ADN complémentaire (ADNc) grâce à une enzyme appelée transcriptase inverse puis cet ADNc est copié de nombreuses fois (amplification) grâce à une enzyme appelée ADN polymérase. Il faut donc d'abord isoler l'ARN viral, le transcrire en ADNc et faire de très nombreuses copies de cet ADNc. Ceci permet d'amplifier le nombre de copies d'ADNc (Fig. 11). On préfère amplifier l'ADNc plutôt que l'ARN viral car l'ADN et son enzyme de polymérisation sont des molécules stables. Plus il y aura de brins d'ARN viral au départ, plus il y aura d'ADNc.

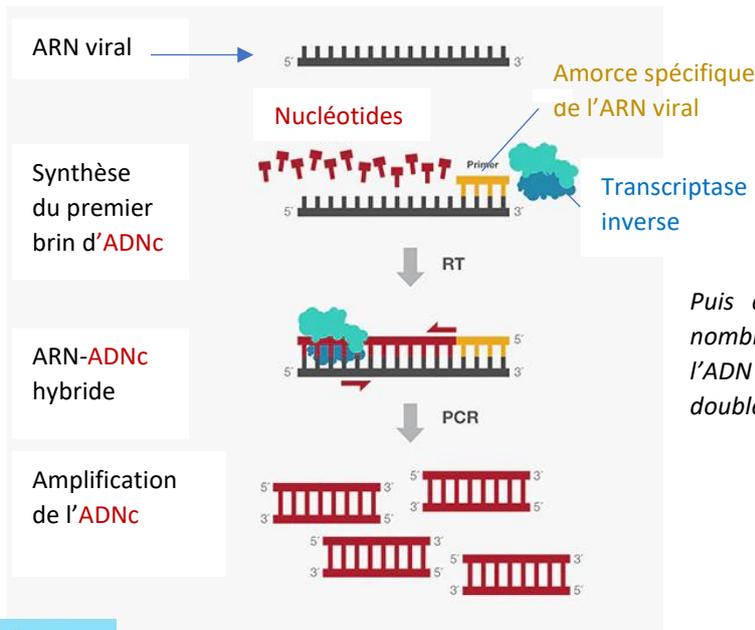


Figure 11 : RT-PCR : après isolation de l'ARN viral celui-ci est copié en ADN dit complémentaire (ADNc) grâce à une amorce spécifique (en jaune) qui s'hybride à l'ARN viral et une enzyme la transcriptase inverse.

Puis ce premier brin d'ADNc est copié de nombreuses fois grâce à une autre enzyme, l'ADN polymérase, pour former des ADNc double brin. Source Thermofisher Scientific



Figure 12 : Résumé des différentes étapes du test PCR (mesure de la charge virale dans un prélèvement nasal).

Pour que ce test ARN dit test PCR puisse être effectué sur de très nombreuses personnes, il faut de nombreux appareils de PCR quantitative (qPCR), des kits de PCR spécifiques de l'ARN du SARS-CoV-2 (amorces, transcriptase inverse, ADN polymérase, nucléotides, solvants....) et faire tourner les appareils 24h/24h. Il faut aussi des protections disponibles pour les laborantins, surtout pour les toutes premières étapes pendant lesquelles ils manipulent des échantillons humains contaminés.

Avec ce test, les faux négatifs sont plus nombreux que les faux positifs. Cela veut dire qu'un résultat positif est fiable et indique qu'on est effectivement atteint de COVID-19 alors qu'un résultat négatif ne prouve pas forcément qu'on ne soit pas atteint. Il se peut qu'on ait des symptômes de COVID-19 et que le test soit négatif parce que le virus n'est plus qu'en très faible quantité dans la sphère nasopharyngée. On estime que 30% des résultats de ce test ne sont pas bons.

## 8. Le dépistage par prélèvement salivaire et PCR : la mesure de la charge virale dans des conditions moins contaminantes et plus faciles

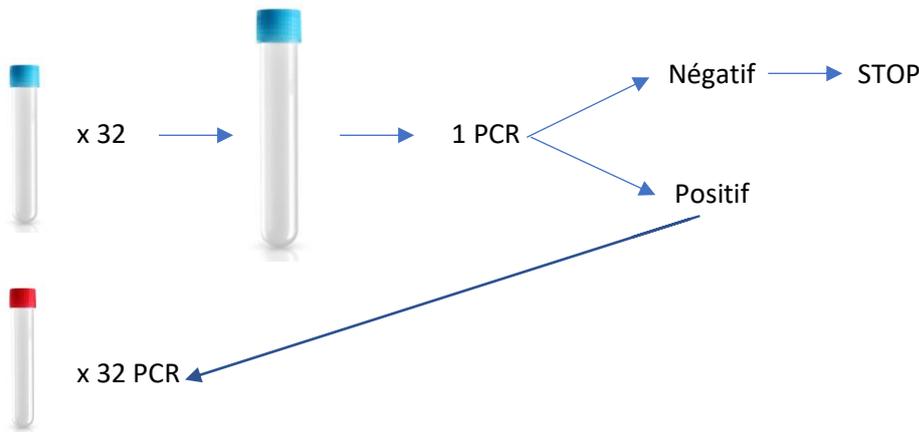
Des recherches ont été faites pour mettre au point un test salivaire afin de rendre le test de dépistage du virus SARS-CoV-2 moins contaminant pour le personnel de laboratoire et moins désagréable pour les personnes testées. En effet, pour réaliser l'écouvillonnage, les laborantins doivent s'approcher des personnes à dépister et ce procédé induit de plus de forts éternuements très contaminants. Dans le test salivaire, les personnes crachent elles-mêmes dans un tube, le ferme et l'apporte au laborantin qui effectue ensuite une PCR comme pour le test nasopharyngé.

Afin de tester la validité du test salivaire par PCR, les résultats obtenus avec le test nasal et le test salivaire faits le même jour sur les mêmes personnes hospitalisées ont été comparés. Un à cinq jours après le diagnostic clinique de la COVID-19 chez des patients, 81% des personnes étaient positives pour le test salivaire et 71% pour le test nasopharyngé (sachant que les mêmes PCR ont été effectuées sur ces deux échantillons)<sup>11</sup>.

L'organisation d'un test salivaire peut se faire par mise en commun des échantillons. Soient 32 personnes à tester, chacune crache dans deux tubes, un bleu et un rouge. Tous les bleus sont rassemblés en un seul tube. Si ce tube donne un résultat négatif, la recherche de virus s'arrête là. Si ce tube donne un résultat positif alors les tests sont faits un à un dans les tubes rouges pour trouver la ou les personnes infectées. Ainsi on fait une économie de temps et d'argent.

Le test salivaire par PCR a reçu récemment l'agrément par la FDA (Food and Drug Administration). La HAS (Haute Autorité de Santé) en France a émis un avis favorable mais seulement pour les personnes symptomatiques. Pour les personnes asymptomatiques ce test salivaire n'est pas assez fiable.

<sup>11</sup> Wyllie et al, Saliva or nasopharyngeal swab specimens for detection of SARS-CoV-2, New England Journal of Medicine, sept 24 2020



## 9. Le dépistage par test antigénique : encore à l'étude

Ce test requiert un écouvillonnage dans le nez ou la gorge. Mais pour la suite, il est très différent des tests PCR car il repère des protéines présentes à la surface du virus et non pas son matériel génétique (ARN). Le résultat peut être obtenu en quelques minutes mais à l'heure actuelle il n'est pas encore au point car il donne trop de résultats faux négatifs.

## 10. La recherche des anticorps anti-SARS-CoV-2 dans le sang : connaître son immunité contre la COVID-19

Le corps fabrique des anticorps contre les agents infectieux et notamment contre le SARS-CoV-2 mais cette fabrication prend du temps pour débiter, environ une huitaine de jours.

Le test sérologique est une recherche d'anticorps dans le sang ou plus exactement dans la partie sérum du sang, d'où son nom sérologique. C'est un test couramment effectué pour toutes les recherches d'anticorps. Il suffit d'une goutte de sang en se piquant au bout du doigt, ou d'un prélèvement sanguin intraveineux. On dit que la personne est séropositive pour tel pathogène. On a, à tort, précédemment employé ce terme de séropositif uniquement pour les personnes ayant des anticorps contre le VIH, virus du SIDA, mais en fait il s'applique à tous les pathogènes.

La [figure 13](#) montre qu'à partir de la date de l'infection, les virus se multiplient dans le corps (montée de la courbe rouge). Puis les défenses immunitaires, qui sont de nombreux types, luttent contre le virus et la courbe rouge redescend. Les anticorps (courbe verte) apparaissent peu de temps avant la fin de la courbe rouge et leur nombre croît.

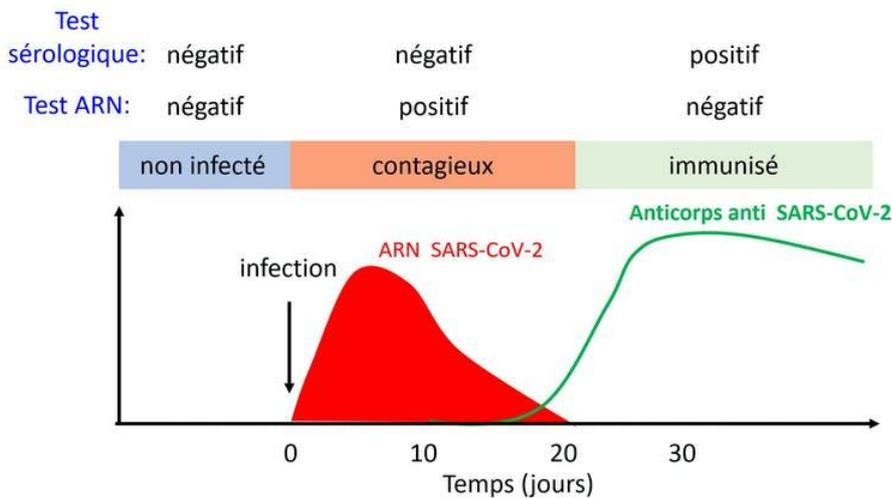


Figure 13 : schéma simplifié du déroulé temporel de l'immunisation chez les individus infectés asymptomatiques ou qui ont guéri.

Source The conversation, 19 avril 2020

Juste après l'infection, le virus est présent dans le corps de la personne infectée pendant toute la durée de la courbe rouge. Pendant cette durée, cette personne a un test PCR (ARN) positif et elle est contagieuse. En revanche, son test sérologique est négatif car elle n'a pas encore fabriqué des anticorps anti-SARS-CoV-2. Ensuite, quand le virus a presque disparu dans son corps, ses anticorps apparaissent : son test PCR est négatif mais son test sérologique est maintenant positif. Tant que des anticorps sont présents dans son sang, l'individu est en principe immunisé. Actuellement on sait que le corps humain fabrique des anticorps neutralisants contre le SARS-CoV-2, dirigés contre la protéine spicule (S) qui confèrent une immunité, mais on ne sait pas pour combien de temps.

La mise au point d'un test sérologique pour repérer les anticorps anti-SARS-CoV-2 dans le sang s'est heurté aux deux difficultés habituelles rencontrées : qu'il n'y ait pas de faux positifs (d'autres anticorps que ceux anti-SARS-CoV-2 repérés, par exemple des anticorps reconnaissant d'autres coronavirus) et qu'il n'y ait pas trop de faux négatifs (les anticorps anti-SARS-CoV-2 sont repérés mais seulement s'ils sont en très forte concentration dans le sang).

Effectuer à la fois le test PCR et le test sérologique dans une population permet d'informer les personnes infectées et par conséquent contagieuses et non immunisées et qu'elles s'auto-isolent. Cela permet aussi d'informer les personnes ayant été infectées mais qui ne sont plus contagieuses et même protégées, au moins pour un temps, d'une seconde infection, car elles ont des anticorps anti-SARS-CoV-2.

Constance Hammond, relecture Etienne Decroly (chapitres 1 à 6).