



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri
Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et
de la Vie

جامعة الاخوة منتوري
قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم: الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie Moléculaire des Microorganismes.

Intitulé :

**Méthodes immunologiques, sérologiques et moléculaires de dépistage du
coronavirus SARS-CoV-2**

Présenté et soutenu par : - *Kraimia Esma et Nandi Linda Sheila*

Le :23 /09/2021

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme Boubekri Karima (Professeur - UFM Constantine 1).

Encadreur: M. Haddi Mohammed Laid (Professeur - UFM Constantine 1).

Examineur: M. Boulahrouf Khaled (Maitre de Conférences - UFM Constantine).

***Année universitaire
2020- 2021***

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu, le tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la patience pour bien mener ce travail.

En préambule à ce mémoire, il nous est agréable de remercier vivement tous ceux qui grâce à leur aide précieuse, ont permis la réalisation de ce travail et particulièrement notre encadreur le professeur HADDI M. Laid qui nous a dirigé durant ce travail, pour ses explications, ses conseils, son aide, son encouragement durant les moments difficiles et sa disponibilité.

Ainsi que les membres du jury Mme Boubekri Karima et M. Boulahrouf Khaled.

Dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin (familles, amis et proches) ont permis par leurs conseils leurs compétences et leur soutien la réalisation de ce mémoire

Dédicaces

Ce mémoire de fin d'études est dédié en premier lieu à mes parents

À ma mère Almi Yassmina la fleur de ma vie qui a beaucoup sacrifiée pour moi et a attendu mon diplôme avec un cœur passionné, qui était assise à côté de moi pendant la préparation de ce mémoire et me disait à quel point ce serait spécial. Mais elle est décédée avant cela, que son âme pure repose en paix.

À mon père Nourel-din qui ne m'a privé de rien malgré la difficulté d'y accéder et qui m'a donné un amour infini, toujours

À mon frère Zakaria qui était toujours présent et pour son épouse compréhensive Oumeima.

À mes sœurs, mes tantes et mes oncles qui étaient un soutien psychologique et une source d'amour sincère

À ma collègue Linda, qui a partagé avec moi la peine de réaliser ce travail

Et enfin Je remercie mes cousines, mes amies et toute personne qui a contribué à la réalisation de ce travail

Esma

Dédicaces

À ma famille, en particulier ma mère, Mme Wiiwo J. pour son amour inconditionnel, ses encouragements, son inspiration, son soutien indéfectible et ses paroles de sagesse.

À mon frère et mes sœurs pour leur présence et leur soutien à tous les moments.

À mes amis et camarades de classe qui m'ont guidée, soutenu tout au long de mes études.

À mes professeurs et éducateurs qui m'ont encouragée, inspirée et aidée à acquérir des connaissances.

Aux gouvernements ougandais et algérien qui m'ont octroyé la bourse d'études.

À ma collègue Kraimia E. avec qui j'ai travaillé au cours de cette recherche.

À tous ceux qui aiment la science et à tous ceux qui ont été touchés par la pandémie de COVID-19.

Celui-ci est dédié à chacun d'entre vous.

Linda

Table des matières

Liste des abréviations.....	5
Liste des tableaux.....	7
Liste des figures	8
Introduction	10
Chapitre 1 : Coronavirus <i>SARS-CoV-2</i>	13
1.1 : Les coronavirus	14
1.1.1 Définition.....	14
1.1.2 Les coronavirus qui infectent l'homme « HCoV.....	15
I. Les coronavirus classique « <i>HCoV-OC43</i> et <i>HCoV-229E</i> »	15
II. Les coronavirus nouveaux « <i>HCoV-NL63</i> et <i>HCoV-HKU1</i> ».....	16
III. Les coronavirus émergents	17
1.2 Le coronavirus <i>SARS-CoV-2</i>	18
1.2.1 Historique.....	18
1.1.1 Classification des coronavirus	19
1.1.2 Architecture et structure	20
1.1.3 Gènes et génome du coronavirus <i>SARS-CoV-2</i>	25
1.1.4 Le cycle viral	26
1.1.5 Réservoirs naturels et transmission.....	28
1.2 La maladie infectieuse respiratoire Covid-19	30
1.2.1 Définition et épidémiologie de la maladie.....	30
1.2.2 Physiopathologie de la Covid-19.....	40
1.2.3 Manifestation clinique	42
1.2.4 Préventions.....	43
1.2.5 Types de vaccins.....	44
Chapitre 2 : Les méthodes de dépistage du coronavirus <i>SARS-CoV-2</i>	50
2.1 Méthode de dépistage immunologique.....	51
2.1.1 L'objectif des tests antigéniques.....	51
2.1.2 Principe	51
2.1.3 Les antigènes cible	51
2.1.4 Détection des protéines antigéniques virales par les tests de détection rapide basée sur l'immunochromatographie à flux latéral	52
I. Objectif	52
II. Principe	52

III.	Les composants des tests à flux latéral.....	53
IV.	Procédure.....	54
2.1.5	Dépistage immunologique par la technique d'ELISA	57
I.	Objectif.....	58
II.	Principe.....	58
III.	Les éléments du test ELISA.....	58
IV.	Procédure.....	59
2.2	Dépistage par les tests sérologiques	61
2.2.1	Définition et principe.....	61
2.2.2	Objectifs.....	62
2.2.3	Evolution des anticorps sériques.....	62
2.2.4	Dépistage sérologique par le test immunochromatographiques à flux latéral	63
I.	Objectif.....	63
II.	Principe.....	63
III.	Procédure.....	64
2.2.5	Dépistage sérologique par la technique d'ELISA	65
I.	Objectif.....	65
II.	Principe.....	65
III.	Procédure.....	65
2.2.6	Test de neutralisation	66
I.	Objectif.....	67
II.	Principe.....	67
III.	Procédure du test réaction de neutralisation	68
2.3	Dépistage par les techniques moléculaires (PCR)	68
2.3.1	Principe de la PCR.....	68
2.3.2	Reverse transcriptase PCR en temps réel	70
I.	Principe.....	70
II.	Objectif.....	71
III.	Procédure générale de la RT-PCR	71
2.3.3	La PCR numérique en gouttelettes (ddPCR).....	71
I.	Objectif.....	72
II.	Principe.....	72
III.	Procédure générale de la ddPCR	73
Chapitre 3: discussion.....		75
3.1	Dépistage par les techniques immunologiques	76
3.1.1	Le test immunochromatographique à flux latéral	76

I.	Résultats.....	76
II.	Avantages du dépistage immunologique par le test immunochromatographique à flux latéral	77
III.	Inconvénients du dépistage immunologique par le test immunochromatographique à flux latéral	78
IV.	Limites du dépistage immunologique par le test immunochromatographique à flux latéral	78
3.1.2	La technique d'ELISA pour la détection des antigènes.....	79
I.	Résultats d'ELISA pour la détection des antigènes.....	79
II.	Avantages du test d'ELISA	80
III.	Inconvénients du test d'ELISA	81
3.2	Les techniques de dépistages sérologiques.....	82
3.2.1	Le test immunochromatographique à flux latéral (test rapide de détection des anticorps).....	82
I.	Résultats du test rapide de détection des anticorps	82
II.	Avantages du test rapide de détection des anticorps	83
III.	Inconvénients du test rapide de détection des anticorps.....	83
IV.	Limites du test rapide de détection des anticorps	84
3.2.2	Le test d'ELISA	84
I.	Lecture et interprétation du test d'ELISA pour la détection des anticorps	84
II.	Avantages du test d'ELISA pour la détection des anticorps	85
III.	Inconvénients du test d'ELISA pour la détection des anticorps	85
IV.	Limites du test d'ELISA pour la détection des anticorps.....	86
3.2.3	Le test de neutralisation.....	86
I.	Résultats et interprétation du test de neutralisation.....	86
II.	Avantages du test de neutralisation.....	87
III.	Limites du test de neutralisation	87
3.2.4	Interprétation et résultats possibles de l'analyse sérologiques du SARS-CoV-2.	88
3.3	Le dépistage par les techniques moléculaires	89
3.3.1	Le dépistage par la PCR numérique en gouttelettes (ddPCR)	89
I.	Résultats et interprétation.....	89
II.	Avantages du dépistage par la PCR numérique en gouttelettes(ddPCR)	90
III.	Inconvénients du dépistage par la PCR numérique en gouttelettes (ddPCR).....	91
3.3.2	Dépistage par la PCR en temps réel.....	91
I.	Résultats et interprétation du dépistage par la PCR en temps réel	91
II.	Avantages du dépistage par la PCR en temps réel	93
III.	Inconvénients du dépistage par la PCR en temps réel.....	93

3.4	La validité des tests	94
3.5	Discussion	97
	Conclusion et perspectives	99
	Annexes	101
	Lexique	107
	Bibliographie	112
	Résumé	121
	Abstract	122
	ملخص	123

Liste des abréviations

- ❖ ACE 2: Angiotensin-converting enzyme 2
- ❖ Ac : anticorps
- ❖ ADBD : Analyse de biologie délocalisée
- ❖ ADNc : acide desoxyribonucleique complémentaire
- ❖ Ag : antigène
- ❖ AN : Acide nucleiques
- ❖ APN : aminopeptidase N
- ❖ ARNm : acide ribonucleique messenger
- ❖ ATP: Adénosine triphosphate
- ❖ BSL 1: Biosafety Level 1
- ❖ BSL 2: Biosafety level 2
- ❖ CD4: cluster of differentiation 4
- ❖ CD8: cluster of differentiation 8
- ❖ cNT: Competitive neutralisation test
- ❖ COVID-19: Coronavirus Disease 2019
- ❖ C_t: Cycle threshold, cycle de seuil
- ❖ CoVs :Coronavirus
- ❖ DDP4: Dipeptidyl peptidase 4
- ❖ ddPCR: digital droplet polymerase chain reaction
- ❖ DO : Densité optique
- ❖ ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay
- ❖ FDA: Food and drug Administration
- ❖ *HCoV-229E*: Human coronavirus 229E
- ❖ *HCoV-HKU1*: Human coronavirus HKU1
- ❖ *HCoV-NL63*: Human coronavirus NL63
- ❖ *HCoV-OC43*: Human coronavirus OC43
- ❖ HCoV: Human Coronaviruses
- ❖ HRP: Horseradish peroxidase
- ❖ ICTV:International Committee on Taxonomy of Viruses
- ❖ Ig: immunoglobulin
- ❖ IFL : immunochromatographie à flux latéral

- ❖ IFN: interférons
- ❖ IL: interleukines
- ❖ Kb: kilo-bases
- ❖ kDa: kiloDalton
- ❖ LOD: Limit of detection
- ❖ *MERS-CoV*: Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus
- ❖ nm: nanometre
- ❖ NSP : Non-structural proteins
- ❖ ORF : open reading frame
- ❖ OMS : Organisation mondiale de la santé
- ❖ PCR : polymerase chain reaction
- ❖ pH : potentiel d'hydrogène
- ❖ PHB : prohibitins
- ❖ pp : polyprotein
- ❖ Protéine E: Protéine de l'enveloppe
- ❖ Protéine M : Protéine de membrane
- ❖ Protéine N: Protéine du nucléocapside
- ❖ Protéine S: Protéine de la membrane (spike)
- ❖ pVNT : Pseudo-virus neutralisation test
- ❖ RBD: Receptor Binding Domain
- ❖ RTC : replication-transcription complex
- ❖ RT-qPCR: retro-transcriptase polymerase chain reaction
- ❖ *SARS-CoV-1*: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-1
- ❖ *SARS-CoV-2*: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2
- ❖ SDRA: syndrome de détresse respiratoire aiguë
- ❖ SEP: sclérose en plaque
- ❖ TAAN : techniques d'amplification des acides nucléiques
- ❖ TDR: tests de detection rapide
- ❖ TM : transmembranaire
- ❖ TMB : tetramethyl benzidine
- ❖ VNT : Virus neutralisation test

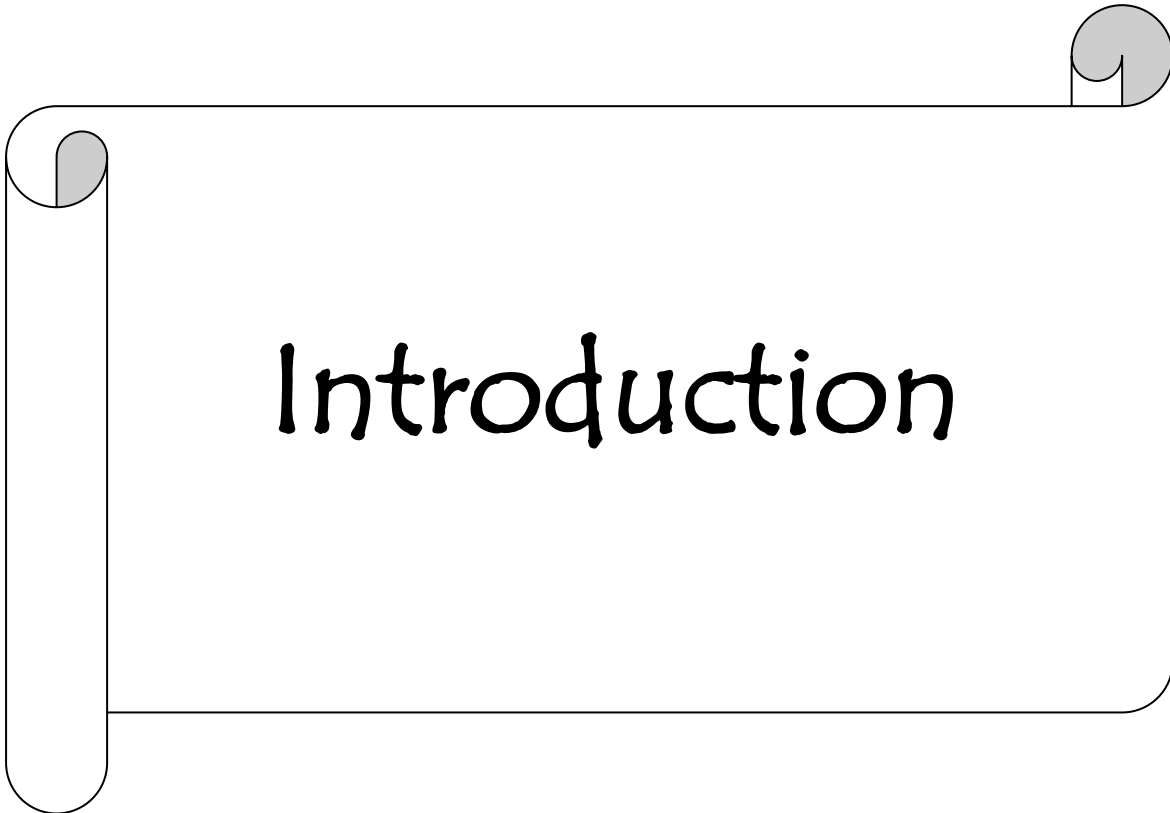
Liste des tableaux

- ❖ Tableau 1 : liste des protéines non structurales du *SARS-CoV-2* et de leurs fonctions moléculaires.....24
- ❖ Tableau 2 : différentes manifestations cliniques chez 615 patients étudiés par Lounis, M. Algérie.....33
- ❖ Tableau 3 : résultats d'un test de neutralisation.....88
- ❖ Tableau 4 : résumé des facteurs qui influencent la validité d'un test.....98

Liste des figures

- ❖ Figure 1 : les différents types des coronavirus qui infectent l'homme.....15
- ❖ Figure 2: représentation schématique de la structure du coronavirus *SARS-CoV-2*.....20
- ❖ Figure 3: organisation du génome du *SARS-CoV-2*.....26
- ❖ Figure 4 : cycle de vie du coronavirus *SARS-CoV-2*28
- ❖ Figure 5 : rôle possible des animaux dans la transmission de *SARS-CoV-2*, hôtes intermédiaires potentiels, infection naturelle et expérimentale des animaux.....30
- ❖ Figure 6 : variation de nombre des cas positifs pour la COVID-19 dans les différentes régions d'Algérie.....32
- ❖ Figure 7 : histogramme de la variation de nombre des cas confirmés positifs pour COVID-19 dans les différentes tranches d'âge en Algérie.....34
- ❖ Figure 8 : répartition des cas confirmés positifs pour la COVID-19 par sexe en Algérie.....35
- ❖ Figure 9 : variation des cas confirmés positifs pour la COVID-19 par tranche d'âge en Ouganda.36
- ❖ Figure 10 : répartition des cas confirmés positifs pour la COVID-19 par sexe en Ouganda.....37
- ❖ Figure 11 : variation des cas positifs de COVID-19 dans les différentes régions en Ouganda.....38
- ❖ Figure 12: évolution des cas de COVID-19 en Algérie et en Ouganda.....39
- ❖ Figure 13: pathophysiologie de la COVID-1941
- ❖ Figure 14 : manifestation clinique de la COVID-1943
- ❖ Figure 15 : mécanisme d'action d'un vaccin de type vecteur viral pour la COVID-19.....45
- ❖ Figure 16 : mécanisme d'action d'un vaccin génétique pour la COVID-19.....46
- ❖ Figure 17 : mécanisme d'action d'un vaccin inactivé pour la COVID-19.....47
- ❖ Figure 18 : mécanisme d'action d'un vaccin atténués pour la COVID-19.....48

❖	Figure 19 : mécanisme d'un vaccin protéique pour la COVID-19.....	49
❖	Figure 20 : schéma du test immunochromatographique à flux latéral.....	53
❖	Figure 21 : schéma montrant le prélèvement de l'échantillon nasopharyngique	55
❖	Figure 22 : schéma montrant le prélèvement de l'échantillon nasal	55
❖	Figure 23 : schéma du protocole de dépistage immunologique par l'immunochromatographie à flux latéral	56
❖	Figure 24 : les différents types d'ELISA	57
❖	Figure 25 : schéma explicatif de la procédure du test ELISA kit Genetex.....	60
❖	Figure 26 : schéma montrant le dépistage sérologique par la méthode d'immunochromatographie à flux latéral.....	64
❖	Figure 27 : schéma montrant le protocole de dépistage sérologique par un test à flux latéral.....	64
❖	Figure 28 : schéma récapitulatif des cycles d'amplification par PCR.....	70
❖	Figure 29: les étapes de la reverse transcriptase polymérase chain reaction : RT-PCR.....	72
❖	Figure 30 : la procédure de la ddPCR.....	74
❖	Figure 31 résultats observés avec les tests immunologiques à flux latéral.....	77
❖	Figure 32 : résultats d'un test d'ELISA.....	81
❖	Figure 33 : résultats et l'interprétations d'un test des anticorps par un test immunochromatographique à flux latéral.....	83
❖	Figure 34: résultats de la ddPCR.....	91
❖	Figure 35 : courbe montrant le cycle de PCR durant lequel l'échantillon atteint une intensité fluorescente au-dessus du fond ; le seuil de cycle ou C_t	93
❖	Figure 36: les résultats du dépistage par l'RTPCR.....	94
❖	Figure 37 : cinétique des marqueurs diagnostiques en fonction du stade de l'infection.....	96



En Décembre 2019, à Wuhan, dans la province du Hubei, en Chine, il y a eu découverte d'une pneumonie d'étiologie inconnue due à la transmission interhumaine qui a fini par causer une pandémie. L'OMS a nommé, le 11 Février 2020, la maladie respiratoire provoquée par le virus *SARS-CoV-2* appartenant à la famille des Coronaviridae avec un matériel génétique de nature ARN monocaténaire : la COVID-19. Comme le nombre de cas et de décès augmentent quotidiennement, en particulier dans certains pays, où la propagation est très forte et atteint un pic très élevé de l'infection, par exemple l'Inde, les États-Unis d'Amérique et le Brésil, elle est considérée comme urgence de sante publique à portée internationale. En plus le virus est devenu de plus en plus contagieux et s'adapte à cause des mutations, ce qui pose des problèmes dont la majorité des gouvernements sont incapables de résoudre à cause de leurs systèmes de santé fragiles et à cause du manque de personnel médical, surtout en absence de traitement, manque de disponibilité de vaccins dans certains pays, la vision négative des gens pour les vaccins et le confinement qui n'est pas une solution à long terme parce qu'il cause des dégâts à l'économie mondiale. Donc la solution efficace est d'effectuer le dépistage pour identifier les personnes infectées avec ou sans symptômes pour les isoler (Nadin, 2020).

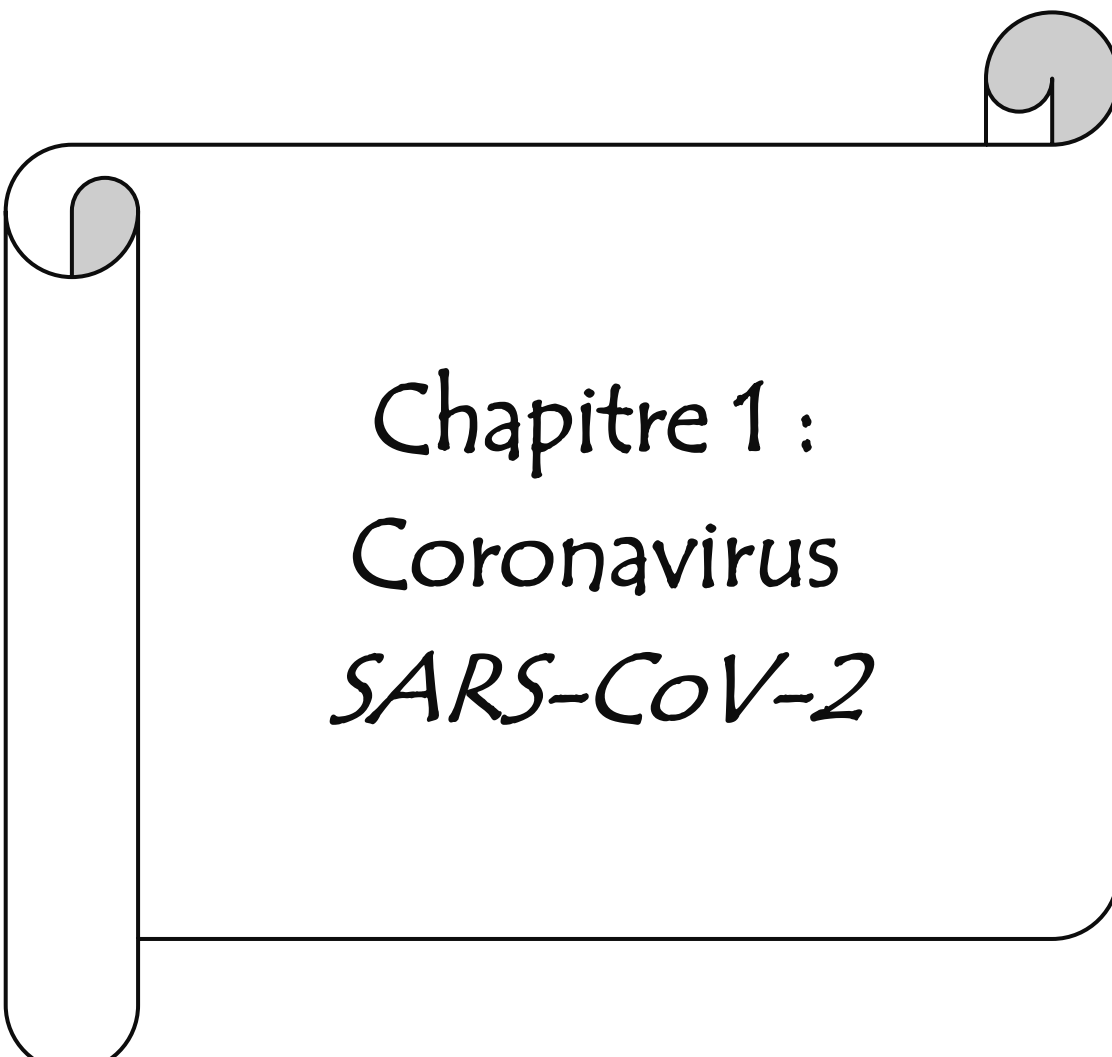
Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), le dépistage consiste à identifier de manière présomptive, à l'aide de tests appliqués de façon systématique et standardisée, les sujets atteints d'une maladie ou d'une anomalie passée jusque-là inaperçue (Haute Autorité de santé, 2006).

Ce besoin de dépistage a donné l'occasion aux industries de biotechnologie de fabriquer plusieurs kits de dépistage pour faciliter le diagnostic médical, la prise en charge clinique ainsi que l'étude de l'épidémiologie de la maladie et la prévention contre l'infection. Ces kits sont basés sur plusieurs techniques qui incluent :

- les méthodes moléculaires : la réaction de transcription inverse de l'ARN suivie d'une réaction de polymérisation en chaîne quantitative en temps réel (RT-qPCR) et la réaction de polymérisation en chaîne numérique en gouttelettes (dd-PCR).
- les méthodes immunologiques qui consistent à la détection de l'antigène spécifique du SARS-CoV-2 par la technique de dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (ELISA) ou les tests rapides basés sur d'immunochromatographie à flux latéral (IFL).
- les tests sérologiques pour la détection des anticorps sériques en utilisant l'ELISA et IFL ou le test de neutralisation.

Toutes ces méthodes présentent des principes et des objectifs différents.

Dans notre étude théorique, nous visons à préciser la différence entre ces techniques utilisées, l'objectif et le principe de chacune d'elles ainsi que la procédure d'application et leurs limites.



Chapitre 1 :
Coronavirus
SARS-CoV-2

1.1: Les coronavirus

1.1.1 Définition

Le terme coronavirus fait référence à la sous-famille des coronavirinae, appartenant à la famille des coronaviridae, elle-même faisant partie de l'ordre des Nidovirales (Kina, 2016).

Les coronavirus sont des virus enveloppés pléomorphes dont la taille varie de 80 à 200 nanomètre (nm). L'observation en microscope électronique permet de distinguer des projections d'environ 20 nm à la surface du virion. Ces projections, sont constituées d'une protéine de surface S « Spike », qui est ancrée dans la membrane virale et confère au coronavirus son aspect du couronne, d'où l'origine de nom de ces virus, dans lequel le terme latin « corona » signifie couronne (Kina, 2016).

Le matériel génétique de ces virus est un ARN monobrin à polarité positive non segmenté et polyadénylé. De taille avoisinant les 30 kilo-bases (kb). C'est donc le plus grand génome de virus à ARN répertoriés à ce jour (Kina, 2016).

Ces coronavirus sont connus à la communauté vétérinaire depuis la fin des années 1930. Après, dans les années 1960 les premiers coronavirus humains (HCoV) ont été identifiés et sont, *HCoV-OC43* et *HCoV-229E* isolés de la décharge nasale de patients qui avaient contractés le rhume. Une vingtaine de coronavirus infectant les animaux ont été identifiés chez la dinde, la souris, la vache, le cochon, le chat et le chien. Certains coronavirus sont les agents des infections hépatiques et respiratoires chez les mammifères et les oiseaux (Ye, 2020).

Il existe trois groupes antigéniques chez les coronavirus qu'on peut considérer comme trois genres différents qui sont :

- Genre1 : Alpha-coronavirus, infecte les mammifères (canin, félin, porcine) et l'homme.
- Genre2 : Beta-coronavirus, infecte les mammifères (bovin, porcine rongeurs) et l'homme.
- Genre3 : Gamma-coronavirus, infecte les oiseaux (poule et dinde) (Pasquier, 2013).

1.1.2 Les coronavirus qui infectent l'homme « HCoV »

Ils sont à l'origine des infections respiratoires plus au moins sévères selon la population étudiée. A ce jour sept (7) coronavirus sont décrits : les *HCoV-229E* et *HCoV-NL63* qui sont des alpha-coronavirus et les *HCoV-OC43*, *HCoV-HKU-1*, Les *SARS-CoV-1*, le *MERS-CoV* et les *SARS-CoV-2* qui sont des Beta-coronavirus. Ils ont tous les mêmes caractéristiques générales des coronavirus et à une origine zoonotiques (Ye, 2020 ; Kin, 2016).

La figure suivante présente les alpha-CoVs et les beta-CoVs :

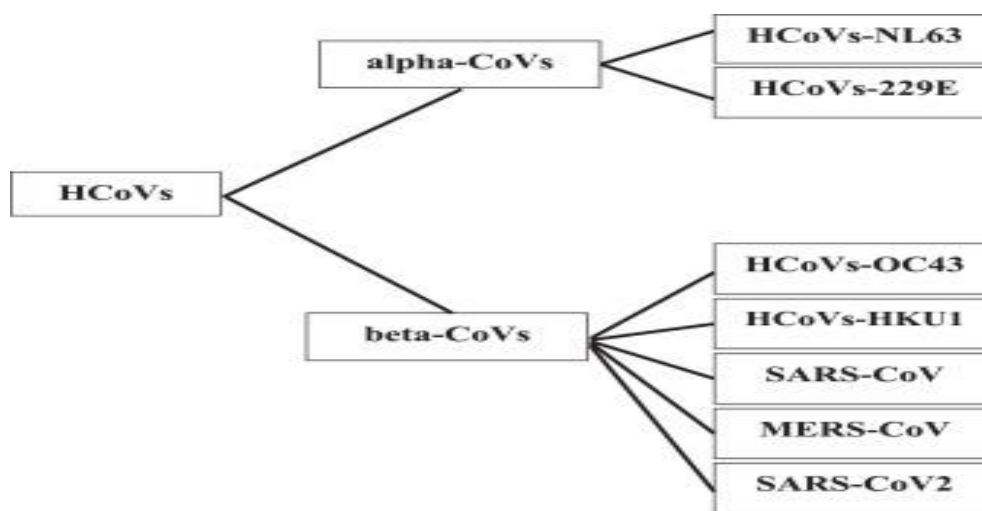


Figure 1 : Les différents types des coronavirus qui infectent l'homme (Yazdanpanah, 2021).

On peut les classer en trois groupes selon les années de découverte et d'émergence.

I. Les coronavirus classique « *HCoV-OC43* et *HCoV-229E* »

Ils sont appelés classiques parce qu'ils sont les premiers coronavirus infectant l'homme identifiés dans les années 1960. En 1966 le *HCoV-229E* a été isolé des voies respiratoires de patients atteints d'une infection des voies respiratoires supérieures puis ils'est adapté pour qu'il puisse se développer dans les cellules pulmonaires. Plus tard en 1967, le *HCoV-OC43* a été isolé de la culture d'organes et du passage en série subséquent dans le cerveau de souris allaitantes.

Les patients infectés par ces virus présentaient des symptômes courant du rhume, notamment des maux de tête, des éternuements, des malaises et des maux de gorge, avec fièvre et toux observés dans 10 à 20% des cas. Ces symptômes ne se distinguent pas du point de vue symptomatique de l'infection par d'autres agents pathogènes des voies respiratoires tels que les virus de la grippe A et les rhinovirus (Ye, 2020 ; Kin, 2016).

Ces virus ont tendance à se transmettre dans la saison hivernale d'un climat tempéré à n'importe quelle région dans le monde, leur temps d'incubation est moins d'une semaine suivie par une de maladie d'environ 2 semaines, dans laquelle des patients en bonne santé développent un rhume doux, mais des cas d'immunodéprimés présentent une infection sévère des voies respiratoires inférieures (Ye, 2020 ; Kin, 2016).

II. Les coronavirus nouveaux «*HCoV-NL63* et *HCoV-HKU1* »

HCoV-NL63 a été isolé chez un enfant de 7 mois des Pays-Bas en 2004, où il est très répandu chez les enfants, les personnes âgées et les cas immunodéprimés souffrant des maladies respiratoires. Ce virus provoque des fièvres, des broncho-trachéites, des bronchiolites, du coryza, et de la conjonctivite. Le *HCoV-NL63* est aussi associé à une laryngite obstructive « croup » qui est une inflammation de larynx empêche les cordes vocales de se mouvoir normalement (Ye, 2020).

Ils représentent environ 4,7% des maladies respiratoires courantes et que son incidence maximale survient au début de l'été, au printemps et en hiver (Ye, 2020).

Dans la même année le virus *HCoV-HKU1* a été isolé chez un homme de 71 ans qui avait été hospitalisé pour une pneumonie et une bronchiolite à Hong Kong. Outre quela pneumonie communautaire et la bronchiolite, le *HCoV-HKU1* a été associé à une exacerbation aiguë de l'asthme chez les cas immunodéprimés (Ye, 2020).

Les coronavirus classiques et nouveaux se sont bien adaptés aux humains. Donc, ils deviennent moins virulents ou pathogènes. Et sont généralement moins susceptibles de muter pour provoquer des maladies hautement graves, sauf exception le cas rare d'un sous-type plus virulent de *HCoV-NL63*, qui a récemment été signalé comme causant une infection grave des voies respiratoires inférieures en Chine (Ye, 2020).

En plus des pathologies respiratoires les virus HCoV peuvent provoquer une maladie entérique modérée (gastro-entérite, diarrhées), qui n'est pas encore définie comme une conséquence indirecte ou directe (Ye, 2020).

D'autres données suggèrent un potentiel neuro-invasif de ces coronavirus selon des études anciennes où ils sont observés des particules similaires aux HCoV dans le cerveau des personnes mortes de sclérose en plaques (SEP), ainsi que des anticorps dirigées contre le HCoV classique. Des études récentes ont permis la détection des ARN de ces HCoV dans les fluides cérébraux-spinaux, ou dans le cerveau des patients SEP ou d'autre trouble neurologique, malgré cela l'implication des HCoV dans le développement des pathologies neurologiques reste débattue (Ye, 2020).

III. Les coronavirus émergents

Comme leur nom l'indique ce sont des HCoV qui ont déjà causés des épidémies et des pandémies mondiales, il y en a trois :

A- Le SARS-CoV-1 « syndrome respiratoire aiguë sévère-1- »

C'est le premier coronavirus humain qui a causé une pandémie de syndrome respiratoire aiguë sévère, connu aussi sous le nom de la pneumonie atypique. Le premier cas était à Foshan city, dans la province du Guangdong en Chine. Chez un homme de 40 ans qui est un intermédiaire entre les fournisseurs d'animaux vivants et les restaurants. L'émergence de l'épidémie a été déclarée en Novembre 2002, dont laquelle 8096 cas ont été rapportés avec 774 décès (Pasquier, 2013). Dans 32 pays et pendant 144 jours (Kina, 2016). Le taux de mortalité globale est de 10% et il a atteint les 50% pour les personnes âgées. Ce virus est caractérisé par une période d'incubation de 2 à 14 jours. Après une période de la maladie caractérisée par des symptômes précoces (forte fièvre plus de 38°C ainsi qu'un syndrome respiratoires modéré, des toux, des maux de tête ou de gorge et un état de fatigue générale). Puis les symptômes évoluent, provoquant un syndrome de détresse respiratoire aiguë ainsi qu'une lymphopénie, jusqu'à la pneumonie sévère et le décès du patient (Kina, 2016).

Chez nombreux patients surtout à Hong Kong des troubles digestifs avec des diarrhées liquides on été observés plus que les symptômes respiratoires. Du coup, le virus a été observé dans différents prélèvements comme les cellules de l'épithélium intestinal après 20 jours de symptômes dans les selles qui sont un indice d'une infection très forte. Sa présence dans ces

deux prélèvements ont été expliqués par une virémie où le virus a été détecté dans le sang des patients après le début des symptômes (Kina, 2016).

B- Le *MERS-CoV* « middle east respiratory syndrome coronavirus »

En septembre 2012 le virus *MERS-CoV* a été identifié chez un patient de 60 ans à l'hôpital de Jiddah (Arabie saoudite) à partir d'un prélèvement pulmonaire (Ye, 2020). Le 21 mars 2016 L'OMS a déclaré 1694 cas de *MERS-CoV* dont 605 morts dans 26 pays de continents différents (Kina, 2016).

Ce virus est caractérisé par une période d'incubation de 2 à 13 jours, son potentiel de transmission d'un humain à un autre est faible par rapport au *SARS-CoV* ce qui peut être expliqué par la charge faible de ce virus dans les prélèvements respiratoires élevée par rapport aux prélèvements respiratoires bas (Kina, 2016).

Les manifestations cliniques de *MERS-CoV* sont semblables à celle de *SARS-CoV-1* (pneumonie progressive) mais se distingue des autres HCoV par une insuffisance rénale développée chez certains patients. Il est aussi observé que 30% des patients présentant des symptômes gastro-intestinaux : diarrhées et vomissements (Ye, 2020).

Au 14 février 2020 durant la pandémie de SARS-CoV-2, plus de 2500 cas de *MERS-CoV* confirmée aux laboratoires ont été signalés avec un taux de mortalité élevée de 34.4% (Ye, 2020).

C- Le *SARS-CoV-2* « syndrome respiratoire aiguë sévère-2- »

Qui est le sujet le plus intéressant actuellement.

1.2 Le coronavirus SARS-CoV-2

1.2.1 Historique

En Décembre 2019, un nouveau coronavirus était identifié dans la ville de Wuhan, province de Hubei en Chine, chez des patients qui présentaient des pneumopathies sévères inexplicables. En février 2020, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a attribué le nom de COVID-19 pour désigner la maladie causée par ce virus, initialement appelé nCoV-2019, puis *SARS-CoV-2* par le comité international de taxonomie des virus (V. Bonnya, 2020). A travers le monde, le 17

septembre 2021, 227062289 cas étaient confirmés globalement et 4688334 décès par l'OMS, 200 989 cas et 5 651 décès en Algérie et 121984 cas et 3115 décès en Ouganda (OMS, 2021).

Le nombre de personnes infectées dans le monde le 17 septembre 2021 était 227062289 personnes, parmi lesquelles 41853266 aux États-Unis et 33263542 en Inde c'est pour ça ces deux pays sont considérés comme les pays à infection plus haute. Mais aussi il y a un très grand nombre de guérissons des personnes infectées dans le monde il atteint un nombre total de 196817174 dès le début de la pandémie jusqu'à 2 septembre 2021 dans le monde. On s'attend à ce que le taux d'infection diminue après la vaccination du plus grand nombre possible de personnes le nombre des personnes qui sont vaccinées (toutes les doses) est 2,4 millions dans le monde en 17 septembre 2021 (OMS, 2021). mais il faut que la sensibilisation et la responsabilité augmentent aussi (Moyou, 2021)

1.1.1 Classification des coronavirus

La famille des *Coronaviridae* est subdivisée en deux sous-familles ; les *letovirinae* et les *Orthocoronavirinae* qui regroupent quatre genres différents selon les analyses phylogénétiques et la structure du génome ; *Alphacoronavirus*, *Bêtacoronavirus*, *Gammacoronavirus* et *Deltacoronavirus* (Halemy, 2020).

Le genre *bêtacoronavirus* regroupe des virus à ARN simple brin enveloppés, de sens positif, d'origine zoonotique comme le cas de *SARS-CoV-2*, la majorité des coronavirus qui infectent l'homme appartient à ce genre sauf les *HCoV-229E* et *HCoV-NL63* qui appartiennent au genre *Alphacoronavirus* (Ye, 2020).

Selon le Comité international de taxonomie des virus ICTV la classification de coronavirus *SARS-CoV-2* est la suivante : (ICTV, 2021).

Royaume : *Riboviria*

Règne : *Orthornavirae*

Embranchement : *Pisuviricota*

Classe : *Pisoniviricetes*

Ordre : *Nidovirales*

Sous-ordre : *Cornidovirineae*

Famille : *Coronaviridae*

Sous-famille : *Orthocoronavirinae*

Genre : *Betacoronavirus*

Sous-genre : *Sarbecovirus*

Espèce : *SARSr-CoV*

Individum: *SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1*
(ICTV, 2021).

1.1.2 Architecture et structure

Le *SARS-CoV-2* est un virus sphérique comprend un enveloppe de 60-220 nm. Structurellement, le *SARS-CoV-2* contient quatre types des protéines de l'extérieur vers l'intérieur, qui sont ; la protéine de pointe (S) responsable à l'aspect couronne au virus en microscopie électronique, la protéine d'enveloppe (E), la protéine de la membrane (M) qui constitue avec les deux protéines précédentes l'enveloppe viral, et la protéine de nucléocapside (N) qui protège L'ARN viral. Ces protéines partagent une similitude de séquence élevée avec la séquence de la protéine correspondante du *SARS-CoV* et du *MERS-CoV* (Amir, 2020).

La nucléocapside à une forme icosaédrique asymétrie cubique, elle contient le génome viral qui est un acide ribonucléique (ARN) de 29881 paires de bases monocaténaire, non segmenté et positif (Amir, 2020). L'ARN positif se comporte comme un ARN messenger (ARNm) et donc peuvent être traduits directement en protéines, contrairement à l'ARN monocaténaire à polarité négative qui ne peut pas être traduit directement en protéines, il nécessite l'intervention d'une enzyme dit ARN polymérase-ARN dépendante (ARN replicase) pour synthétiser à partir cet ARN négatif un ARN messenger et donc un ARN positif pour permettre la traduction (Germain, 2021).

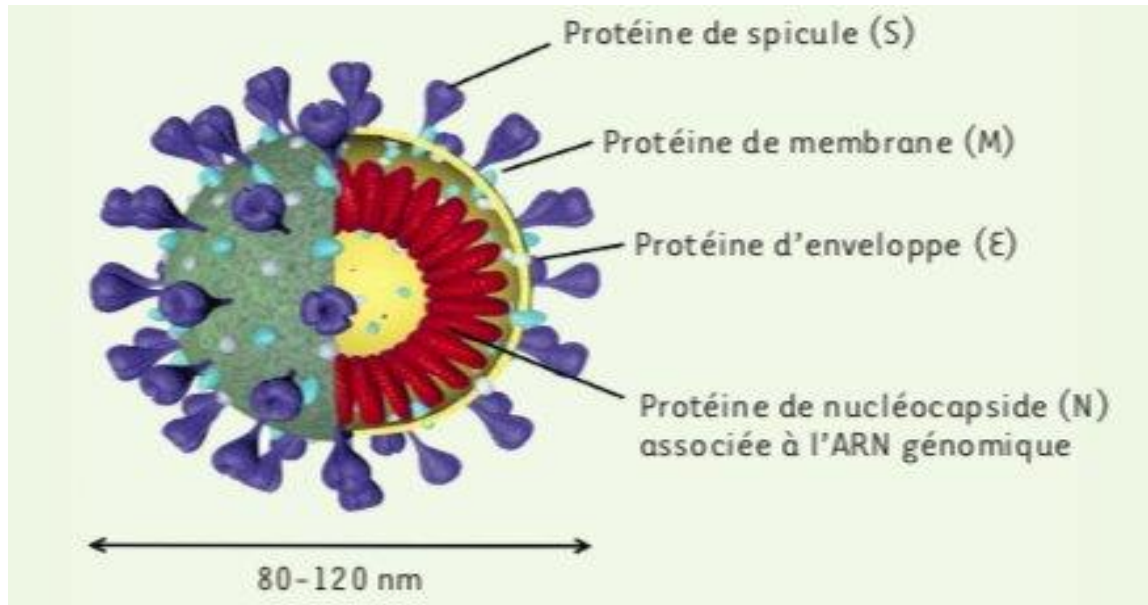


Figure 2 : Représentation schématique de la structure du coronavirus SARS-CoV-2 (Gozlan, 2020).

Comme tous les autres coronavirus, le génome du *SARS-CoV-2* code pour quatre protéines structurales et 16 protéines non structurales (Ahmad, 2020).

I. Protéines structurales

a- La protéine de pointe (S) ou Spike :

Il s'agit d'une protéine transmembranaire de type I présente sur l'enveloppe virale sous la forme d'un homotrimère de nature glycoprotéique. Elle joue un rôle important dans la pathogenèse en se liant à la cellule hôte via sa fragment RBD (receptor binding domain) qui est la partie la plus variable du *SARS-CoV-2* et déclenche l'infection en collant le virion à la cellule hôte. La protéine S est composée de 1273 résidus d'acides aminés contenant trois sous-unités, à savoir S1, S2 et S2' qui agissent différemment au cours du processus d'adhésion à la cellule hôte (Ahmad, 2020).

La sous-unité S1 est impliquée dans l'attachement des virions à la membrane de la cellule hôte en interagissant avec l'ACE2 humaine qui initie par la suite le processus d'infection.

Au cours de ce processus, la protéine S subit des changements de conformations induits lors de son entrée dans les endosomes de la cellule hôte. Les mutations de la protéine S semblent induire des changements conformationnels, qui peuvent provoquer une antigénicité altérée. Plusieurs mutations ont été trouvées dans la région de liaison au récepteur S1 du *SARS-CoV-2* (Ahmad, 2020).

L'autre sous-unité de la protéine S, S2 fonctionne comme la protéine de fusion qui aide à la fusion du virion avec la membrane cellulaire des mammifères. Pendant le processus de fusion, la protéine S2 apparaît dans trois états de conformation principaux :

- i. État natif de pré-fusion.
- ii. Un état intermédiaire pré-épinglé à cheveux.
- iii. État en épinglé à cheveux post-fusion.

Il est intéressant de comprendre comment ces états de conformation dynamiques orchestrent le mécanisme d'entrée virale dans la membrane de la cellule hôte car cela pourrait conduire au développement de thérapeutiques efficaces, mais malheureusement il y a peu d'information sur ce point (Ahmad, 2020).

Et enfin la sous-unité S2' clivée restante de la protéine S fonctionne comme un peptide de fusion. Avec la sous-unité S2 ces deux protéines forment la tige structurale de la protéine Spike (Ahmad, 2020).

b- Protéines d'enveloppe (E)

Elle est relativement petite (75 acide amines) et joue un rôle important dans la morphogénèse, l'assemblage et la libération des virions, dans laquelle elle agit comme des viroporines qui s'assemblent dans la membrane de l'hôte formant des pores protéine-lipide impliqués dans le transport ions.

Les séquences de cette protéine présentent une région hautement conservées similaire chez le *SARS-CoV-1* et le *SARS-CoV-2* mais légèrement différent chez le *MERS-CoV* (Ahmad, 2020).

c- Protéine membranaire (M)

Chez tous les coronavirus, c'est une protéine structurale caractérisée par trois domaines transmembranaires, constituée de 222 acides aminés, qui fonctionnent en accord avec les protéines E, N et S et jouent un rôle majeur dans l'encapsidation de l'ARN viral. La composition en acide aminés est commune chez plusieurs coronavirus . La protéine M est très abondante et fournit l'architecture spécifique des coronavirus (Ahmad, 2020).

d- Nucléoprotéine (N)

Il s'agit d'une phosphoprotéine de 50 kDa codée par le gène ORF9b hautement immunogène (cliniscience, 2021) et hautement conservée à travers les CoV partageant 90%

d'identité de séquence avec celle du *SARS-CoV-1*. La protéine N du *SARS-CoV-2* est souvent utilisée comme marqueur dans les tests de diagnostic et est considérée comme unecibles médicamenteuse potentielle (Ahmad, 2020).

Cette protéine se lie à l'ARN viral par son domaine spécifique et joue un rôle important dans le conditionnement de l'ARN viral dans la ribo-nucléocapside et elle assure l'assemblage de la particule virale en interagissant avec le génome viral et la protéine M, qui sont utiles dans l'augmentation de la transcription et de la réplication de l'ARN viral. Donc elle est impliquée dans la réplication du génome viral ainsi que dans la modulation des voies de signalisation cellulaire.

Des études suggèrent que des anticorps contre la protéine N du *SARS-CoV* reconnaîtraient probablement la protéine N du *SARS-CoV-2* (Ahmad, 2020).

II. Protéines non structurales (NSP)

En plus des protéines structurales, le génome viral code pour de nombreuses protéines non structurales qui sont impliquées dans de nombreux processus biologiques, notamment la réplication du génome viral, le traitement des protéines, la transcription et la protéolyse. Ces protéines sont impliquées dans la liaison à l'activité endopeptidase, l'activité transférase, la liaison à l'ATP, la liaison à l'ion zinc, l'ARN- activité ARN polymérase 5'-3' dirigée, activité exoribonucléase produisant des 5'-phosphomonoesters, et activité méthyl transférase (Ahmad, 2020).

Tableau 1 : Liste des protéines non structurales du SARS-CoV-2 et de leurs fonctions moléculaires (Ahmad, 2020)

Nom de la protéine	Description	Fonction
NSP1	Le produit N-terminal de la réplicase virale	Inhibiteur de la traduction de la protéine leader de l'hôte. assure la réplication et le traitement de l'ARN, impliqué dans la dégradation de l'ARNm
NSP2	Produit de réplicase, essentiel pour la relecture de la réplication virale	Modulation de la voie de signalisation de la survie de la cellule hôte en interagissant avec les protéine de l'hôte la prohibitine(PHB) et la prohibitine-2 (PHB-2)
NSP3	C'est une protéinase de type papaïne contenant plusieurs domaines.	Fonctionne comme une protéase pour séparer la polyprotéine traduite en ses protéines distinctes
NSP4	C'est une protéine couvrant la membrane, elle contient le domaine transmembranaire 2	Permet d'ancrer le complexe de réplication-transcription virale aux membranes du réticulum endoplasmique modifiées (pas encore confirmée)
NSP5	Protéinase de type 3C et protéinase principale	clivage des polyprotéines virales pp1a et pp1b lors de la réplication.
NSP6	protéine transmembranaire située près du réticulum endoplasmique	Joue un rôle dans l'induction initiale des auto-phagosomes à partir du réticulum endoplasmique de l'hôte.
NSP7	C'est une ARN polymérase –ARN dépendante	forme un super-complexe hexadécamérique avec NSP8 qui adopte une structure cylindrique creuse impliquée dans la réplication
NSP8	ARN polymérase multimérique, réplicase	forme un super-complexe hexadécamérique avec NSP7 qui adopte une structure cylindrique creuse impliquée dans la réplication
NSP9	Une protéine virale de liaison à l'ARN simple brin	Participe à la réplication virale en agissant comme une protéine de liaison à l'ARN monocaténaire

Suite et fin du tableau 1.

NSp10	Protéine de type facteur de croissance contient deux motifs de liaison au zinc	Dans la transcription virale en stimulant les activités exo-ribonucléase nsp14 3'-5' et nsp16 2', <i>O</i> -méthyl-transférase joue donc un rôle essentiel dans la méthylation de la coiffe (5'-cap) des ARNm viraux
NSP11	Composé de 13 acides aminés et identique au premier segment de Nsp12.	Inconnu
NSP12	ARN polymérase ARN-dépendante	Responsable de la réplication et de la transcription du génome de l'ARN viral
NSP13	Domaine de liaison au zinc, domaine NTPase / hélicase, ARN 5'-triphosphatase	Un domaine central d'hélicase qui lie l'ATP. Le domaine de liaison au zinc est impliqué dans la réplication et la transcription
NSP14	Relecture du domaine Exo-ribonucléase	Activité exo-ribonucléase agissant dans une direction 3' à 5' et activité N7-guanine méthyl-transférase.
NSP15	EndoRNase;	- activité endoribonucléase Mn ²⁺ dépendante
NSP 16	2'-O-ribose méthyl-transférase	Méthyl-transférase qui assure la médiation de la méthylation du 2'-O-ribose de l'ARNm cap vers la structure 5'-cap des ARNm viraux

1.1.3 Gènes et génome du coronavirus SARS-CoV-2

L'organisation génomique du SARS-CoV-2 partage environ 89% d'identité de séquence avec d'autres coronavirus. Comme tous les coronavirus, le SARS-CoV-2 a un ARN simple brin de sens positif. Caractérisé par une taille d'environ 29,9 Kb et un pourcentage de Guanine-Cytosine (GC%) égale à 38% et contenant 11 gènes codant pour les protéines, avec 12 protéines exprimées. Le génome du SARS-CoV-2 est composé de 13 à 15 cadres de lecture ouverts (ORF) (12 fonctionnels) contenant environ 30,000 nucléotides. Ces ORF sont organisés en réplicase

et protéase et en protéines majeures S, E, M et N, qui suivent un ordre d'apparition typique de 5' à 3' (Ahmad, 2020).

Le génome entier du SARS-CoV-2 code pour une poly-protéine longue d'environ 7096 résidus qui se compose de nombreuses gènes qui code pour les protéines structurales et non structurales (NSP).

Le contenu nucléotidique du génome viral est principalement constitué par deux cadres de lectures ouverts ORF1a et ORF1b présentant les deux tiers de la totalité du génome suivis par les gènes qui codent pour les protéines structurales (Ahmad, 2020).

Les polyprotéines pp1a et pp1ab sont codées par les ORF 1a et 1b, où la polyprotéine pp1ab est codée par le mécanisme de décalage de cadre ribosomal du gène 1b. Ces polyprotéines sont ensuite traitées par des protéinases virales codées et produisent 16 protéines non structurales, qui sont bien conservées dans tous les CoVs appartenant à la même famille (Ahmad, 2020).

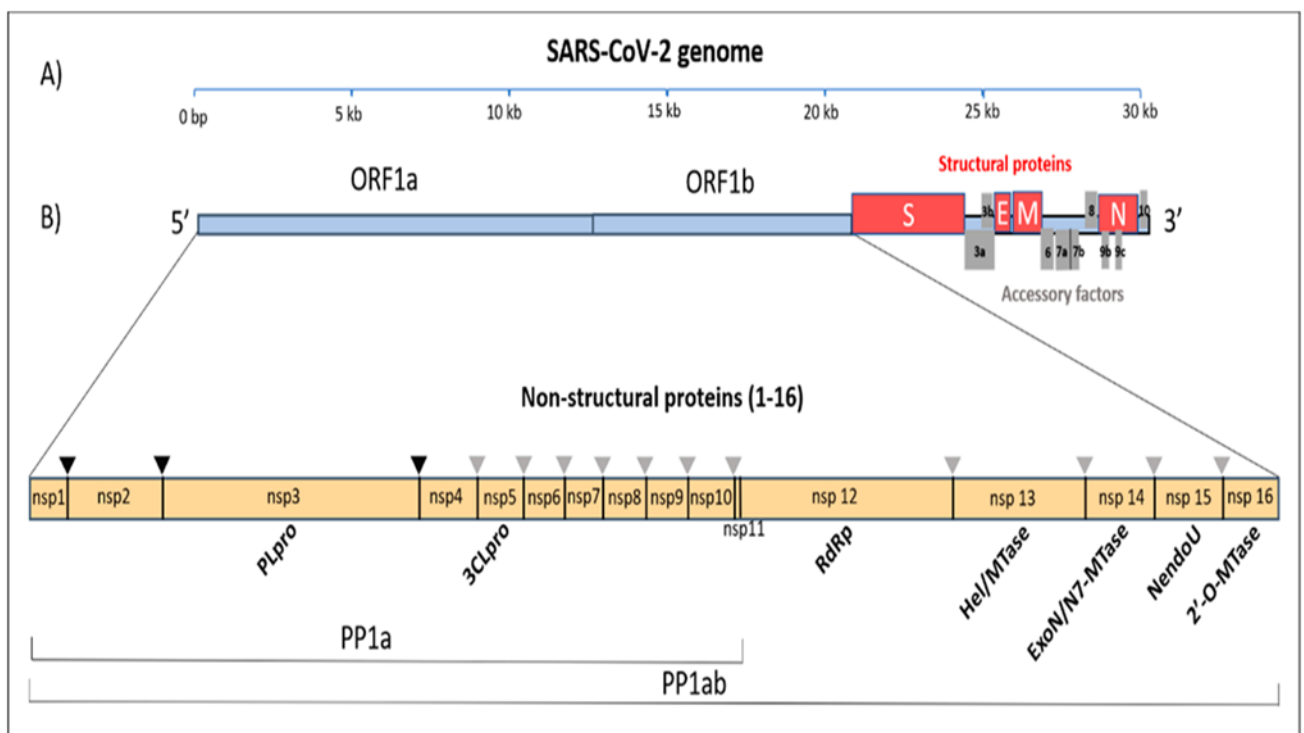


Figure 3 : Organisation du génome du SARS-CoV-2 (Valère, 2020).

1.1.4 Le cycle viral

Le SARS-CoV-2 a la capacité d'envahir deux types des cellules pulmonaires ; les cellules du gobelet produisant les mucus et les cellules ciliées qui éliminent les débris des poumons (Haque, 2020).

À partir du premier contact du virus avec la cellule hôte une liaison s'installe entre la protéine de la pointe S virale et le récepteur ACE2. Ce récepteur est utilisé également pour l'entrée de *SARS-CoV-1* et *HCoV-NL63* mais l'efficacité de liaison par la protéine S de *SARS-CoV-2* est dix à vingt fois supérieure à celle de *SARS-CoV-1*. Ainsi que plus forte que les liaisons avec autres récepteurs comme le dipeptidyle peptidase-4 (DPP4) pour *MERS-CoV* et aminopeptidase N (APN) pour *HCoV-229E*. Ce qui explique la contagiosité forte de *SARS-CoV-2* par rapport au autre coronavirus infectant l'homme (Guo, 2020).

La sous unité S1 de la protéine S virale détermine la gamme virus-hôte et le tropisme cellulaire avec le domaine de fonction clé-RDB. Après la fixation, la protéine S va être clivée en deux par un des protéases de la cellule hôte pour exposer le peptide de fusion qui s'insère dans la membrane cellulaire pour rapprocher et fusionner l'enveloppe virale avec la membrane plasmique de la cellule hôte. Une autre voie, la voie endosomale du virus contenant la protéine de pointe est considérée comme un processus sensible au pH, dans lequel les virions endocytosés subissent une étape d'activation assurée par un pH endosomal acide, conduisant à la fusion des membranes virales et endosomales, libérant ainsi le génome viral dans la cellule cytoplasme (Haque, 2020).

Une fois l'ARN viral est dans le cytoplasme, il va détourner la machinerie de traduction cellulaire à son profit pour synthétiser deux polyprotéines pp1a et pp1ab, ces deux polyprotéines vont subir un traitement par des protéinases virale pour donner les protéines non structurales NSP1-11 et NSP11-16 respectivement (Ahmed, 2020).

Ces NSP forment un complexe de réplication-transcription (RTC) dans une vésicule à double membrane. Le RTC réplique l'ARN génomique et synthétise en continu un ensemble imbriqué d'ARN sous génomique qui codent pour des protéines structurales et accessoires. Ces dernières s'assemblent avec l'ARN génomique néoformé à l'aide de l'appareil de Golgi et du réticulum endoplasmique puis se transporte au milieu extra cellulaire par exocytose (Guo, 2020).

Il faut environ dix minutes pour qu'un virion infecte une cellule hôte, environ 10 heures pour générer une nouvelle particule de virion, et chaque cellule hôte peut libérer jusqu'à 1000 particules virales pendant la durée de l'infection (Mariana, 2020).

Le schéma suivant donne une idée de cycle viral des coronavirus *SARS-CoV-2* ;

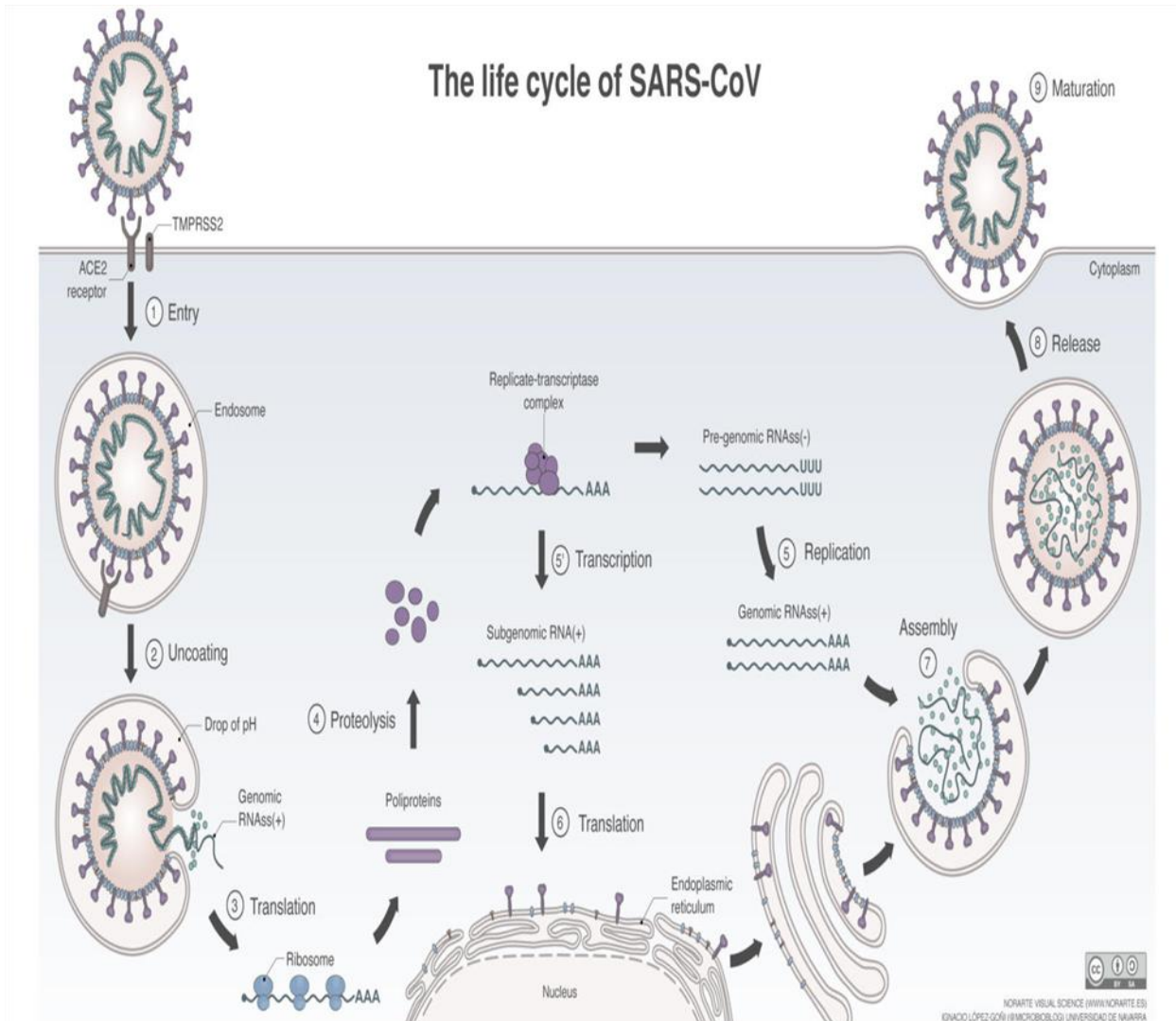


Figure 4 : Cycle de vie du coronavirus SARS-CoV-2 (Wikimedia Commons, 2020)

1.1.5 Réservoirs naturels du coronavirus et sa transmission

Les premiers cas à Wuhan sont tous associés au marché des animaux vivants de Hunan où la première hypothèse d'origine zoonotique de *SARS-CoV* a été déclarée.

Plusieurs études y compris des analyses comparatives du génome du *SARS-CoV-2* indiquent des similitudes très observables avec le génome des coronavirus infectant les chauves souris, ces résultats sont une preuve que la source du *SARS-CoV-2* sont les mammifères, précisément les 2 espèces *Rhinolophus affinis* et *Rhinolophus mallaynus* et donc les réservoirs naturels du *SARS-CoV-2*. Les CoV ont besoin d'hôtes intermédiaires ou amplificateurs au sein desquels le *SARS-CoV-2* a pu acquérir une partie ou la totalité des mutations nécessaires avant d'être transmis à l'homme (Mahdy, 2020).

Il est aussi intéressant de noter que l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE2) des humains et des chiens partage une identité de séquence élevée (13 sur 18) et donc leur liaison au pic RBD du *SARS-CoV-2* c'est à dire l'attachement de virus au cellule hôte de l'homme ou de chien est assez similaires. Aussi sur la base de la similitude significative de certains gènes une origine probable liée au Pangolin Malais (*Manis javanica*) du *SARS-CoV-2* a également été suggérée. Donc les chiens et les pangolins peuvent être l'hôte intermédiaire le plus probable du *SARS-CoV-2*.

Le *SARS-CoV-2* peut être transmis de l'homme aux autres animaux comme les chats, les chiens, les hamsters, le vison et autres, mais pas le contraire par ce qu'il y a aucune preuve pour dire que ces animaux sont des intermédiaires sauf les visons qui sont capable de transmis le virus à l'homme figure 5 (Mahdy, 2020).

La transmission aux animaux est soit à partir des humains infectés, soit de l'environnement contaminé ou à partir d'autres animaux infectés (Ye, 2020).

La transmission interhumaine est le mode de transmission principale de ce virus ; il peut pénétrer dans l'organisme par contact avec les yeux, le nez, la bouche ou avec les mains contaminées, par inhalation de gouttelettes ou sécrétions d'un malade, ou indirectement par un contact avec des surfaces infectées. Les personnes contagieuses peuvent être symptomatique, asymptomatique ou pré-symptomatique (Amir, 2020).

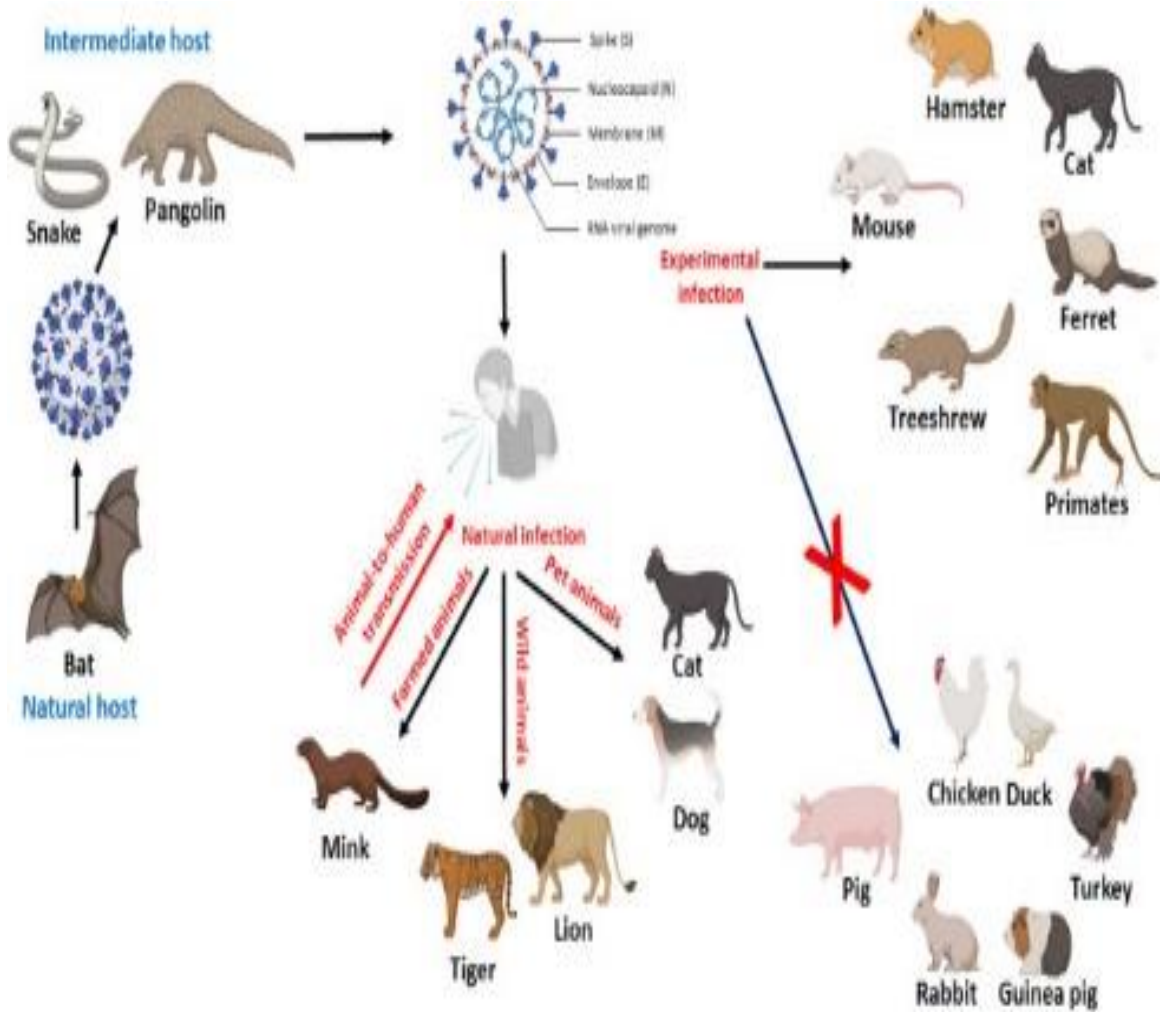


Figure 5 : Rôle possible des animaux dans la transmission du SARS-CoV-2, hôtes intermédiaires potentiels, infection naturelle et expérimentale des animaux (Mahdy, 2020).

1.2 La maladie infectieuse respiratoire COVID-19

1.2.1 Définition et épidémiologie de la maladie

Ce terme COVID-19 fait référence à « *Coronavirus Disease 2019* », la maladie provoquée par un virus de la famille des *Coronaviridae* : Le SARS-CoV-2. Cette maladie infectieuse est une zoonose, dont l'origine est encore débattue. Le COVID-19 est une maladie respiratoire contagieuse pouvant être mortelle chez les patients fragilisés par l'âge ou une autre maladie chronique. Les premiers cas de COVID-19 ont été détectés le 31 décembre 2019 à Wuhan, une ville de la province de Hubei en Chine. Après s'être propagé dans plusieurs pays, principalement en Europe, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a déclaré le 11 mars

2020 que le COVID-19 était une pandémie, avec plus de 20000 cas confirmés et près de 1000 décès parmi les Européens.

Cette épidémie a continué de se propager rapidement d'une façon anormale dans le monde entier, où le nombre de décès dû à ce virus (COVID-19) était de 545481 personnes dans le monde au 06 juillet 2020. Actuellement en 17 septembre 2021 il a atteint le chiffre de 4688334 décès et 227062289 cas. En conséquence, une stratégie de quarantaine a été suivie pour réduire le nombre d'infections (OMS, 2021).

Les facteurs de risque de propagation de ce virus sont l'âge parce que l'immunité humaine devient plus en plus faible avec l'âge et les maladies chroniques surtout les maladies cardio-vasculaires et cérébro-vasculaires. Le 30 mars 2020, une modélisation réalisée à partir de 44672 cas confirmés à travers le monde dont 1023 décès estimait un taux de létalité ajusté de 1,4 %, atteignant 6,4 % dans la population âgée de plus de soixante ans (Amir, 2020).

Des études ont montrés que les femmes ont une réponse immunitaire plus forte et un taux de mortalité plus faible par rapport à ce virus. Le taux de propagation de ce virus varie dans les différentes régions géographiques dû aux données démographiques différentes, la génétique et les différents comportements de la prévention pratiquée. La transmission virale est aussi élevée dans les environnements peuplés comme les maisons de retraite, les prisons, les orphelinats (Amir, 2020).

Selon les médias et le Ministre de la santé en Algérie, la première apparition du virus était le 25 février 2020 chez un ressortissant italien. À partir du 1er mars 2020, un foyer de contagion se forme dans la wilaya de Blida, où seize membres d'une même famille ont été contaminés par le coronavirus lors d'une fête de mariage à la suite de contacts avec des ressortissants algériens en France. Progressivement, l'épidémie se propage pour toucher toutes les wilayas algériennes. Et donc l'Algérie était considérée comme le premier foyer d'Afrique (France télévision, 2020). Le 12 Mars 2020, le premier cas de décès par le SARS-CoV-2 a été déclaré à Blida. Le lendemain autres cas d'infection par le virus ont été signalés à Alger et autres wilayas (itriinsights, 2021). Le président Algérien a ordonné la fermeture des écoles, des universités et de tous les établissements d'enseignement, suivie de la fermeture des mosquées et de la suspension de tous les rassemblements religieux le 13 Mars, et le 19, les restaurants et toutes les formes de transports publics et privés ont été fermés. Blida qui était alors l'épicentre du COVID-19 a été confiné le 23 Mars et un confinement partiel dans le reste des wilayas a été annoncé quelques jours après en raison de la propagation de la maladie.

Selon les statistiques observées le 08 mars 2021, le plus grand nombre des cas se trouvait à Alger (6506cas), suivi de Blida (4435cas), Oran (4248) comme illustré dans la figure 6. Cette répartition de nombre des cas est liée a plusieurs facteurs comme la démographie de la population, l'âge, le sexe et autres (Carte épidémiologique Cas de COVID-19 en Algérie, 2021).

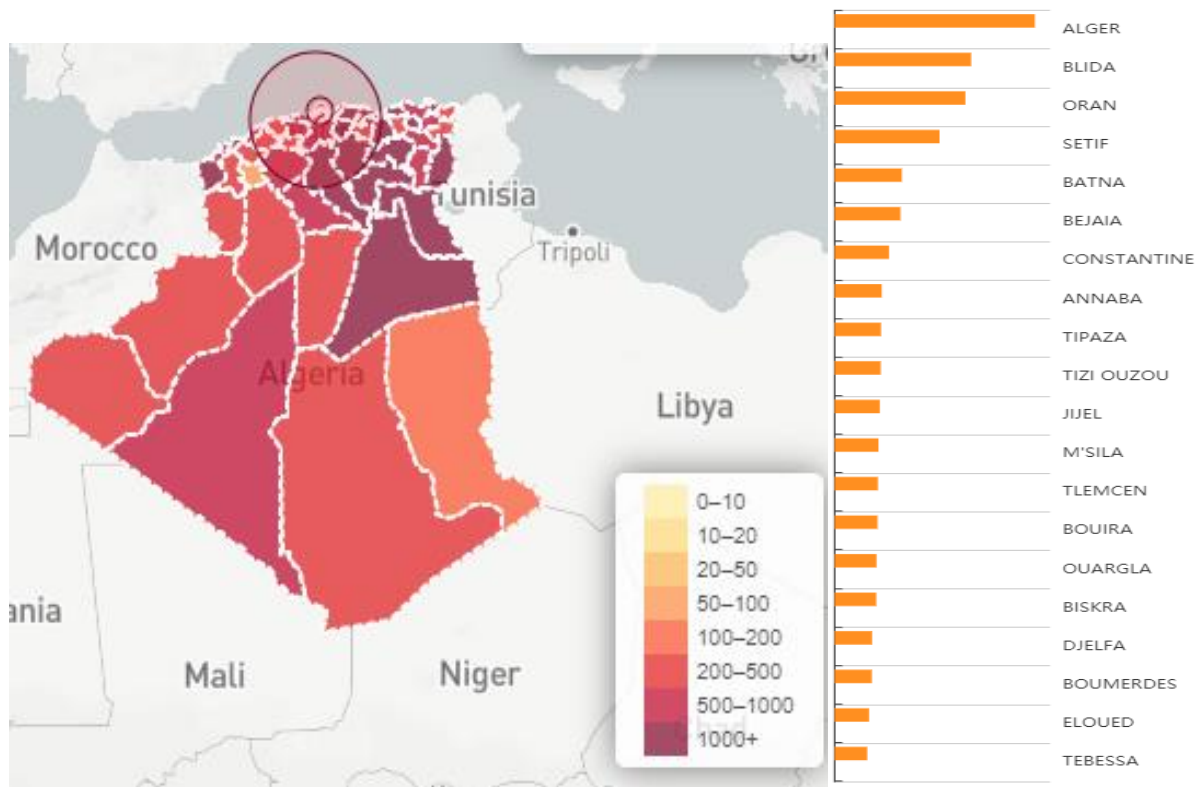


Figure 6 : Variation du nombre de cas positifs de Covid-19 dans les différentes régions d'Algérie.

Le nombre de cas a continué à augmenter, l'Algérie ayant le taux de létalité le plus élevé en Afrique avec 15,7% en 13 avril 2020 (OMS, 2020). Selon l'étude sur un total de 615 patients positifs au COVID-19 par (Lounis M. , A brief review of clinical features of coronavirus disease in Algeria, 2021), de multiples manifestations cliniques ont été observées .la toux (66 %), la fièvre (64,6 %) et l'asthénie (53,3 %) étaient les plus fréquentes. Ces symptômes, en association avec la dyspnée étaient les plus rapportés dans les cas graves. Ainsi que d'autres symptômes moins fréquents comme le tableau ci-dessous indiquent :

Tableau 2 : Les différentes manifestations cliniques chez 615 patients étudiés par Lounis, M. en Algérie (Louniss, 2021).

Symptômes	Total des cas (%)	Cas sévères (%)
Fièvre	64.6	52.8
Toux	66	57.5
Diarrhée	32.3	10
Asthénie	53.3	58.8
Anosmie/agueusie	30.8	/
Myalgie/douleur	26.7	10.2
Nausées/ Vomissements	9.2	10
Douleur abdominale	6.5	/
Mal de tête	25.5	8.7
Hémoptysie	1.9	
Dyspnée	27.5	56
Détresse respiratoire	/	23
Irritation pharyngée/ Odynophagie	10.9	16
Anorexie	50	/
Douleur thoracique	5.8	/
brûlure oculaire	1.1	/
Rhinorrhée	1.1	/
Vertige	1.1	/
Confusion	0.9	/

L'âge est un facteur qui contrôle la propagation de virus. Un pourcentage important des cas positifs à été observé chez les personnes entre 25 et 49 ans (21582 cas), suivis par les patients de 60 ans et plus (18388 cas), puis 50-59ans (9 384 cas), 15-24 ans (1882 cas), 1-14 ans (692 cas). Et enfin, le nombre des cas plus bas observé chez les nourrissons de moins de 1 an (79 cas) comme illustré dans la figure ci-dessous (Carte épidémiologique Cas de COVID-19 en Algérie, 2021)

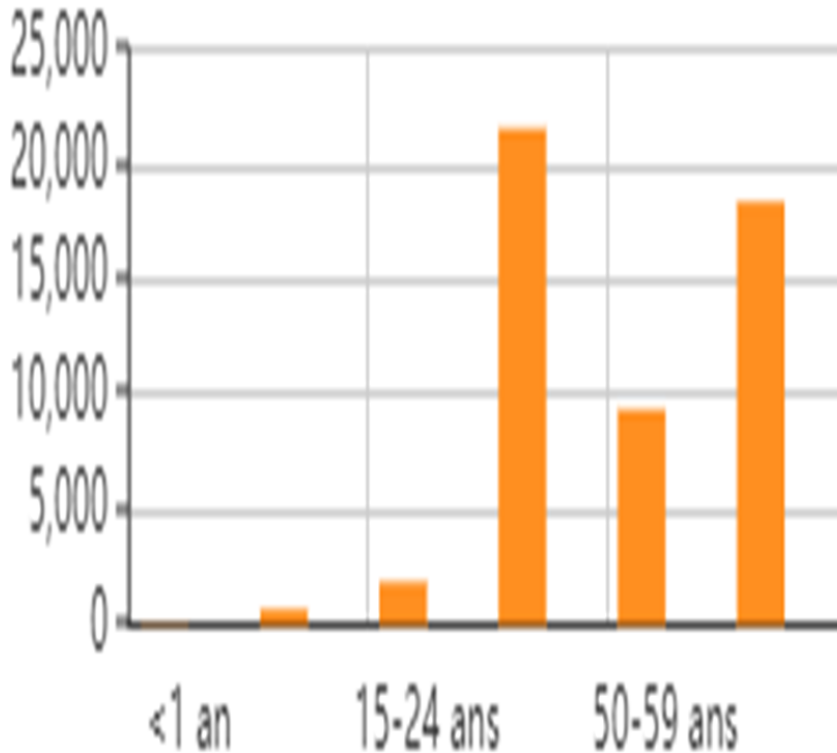


Figure 7 : Histogramme de la variation du nombre de cas confirmés positifs pour la COVID-19 par tranches d'âge en Algérie.

Comme tous les pays africains, en Algérie le nombre des cas positifs du COVID-19 est légèrement plus élevé chez les hommes (53,8 %) que chez les femmes (46,26 %) au 08/03/2021 (Carte épidémiologique Cas de COVID-19 en Algérie, 2021). Cette incidence plus élevée chez les patients masculins pourrait être expliquée par l'exposition plus grande des hommes au virus dans les endroits de travail et publique par rapport au femme et aussi la concentration plus élevée de ACE-2 chez les hommes que chez les femmes (Lounis,2020)

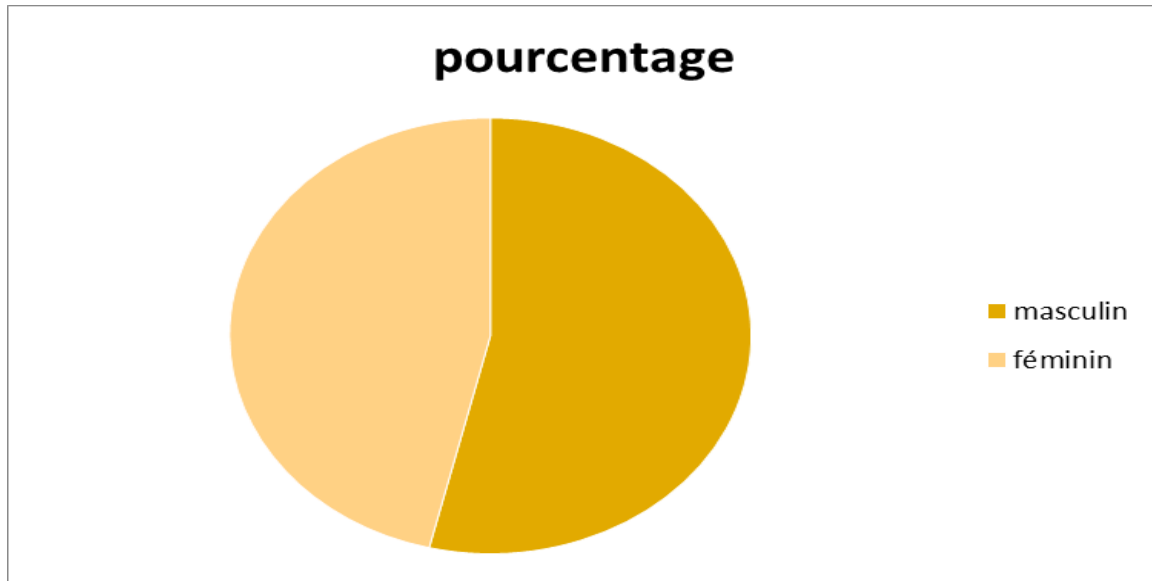


Figure 8 : Répartition des cas confirmés positifs pour la Covid-19 par sexe en Algérie.

Le 20-3-2020, le première cas de COVID-19 a été déclaré par le ministre de la santé de l'Ouganda. C'était un homme de 36 ans provenant de Dubaï à l'aéroport d'Entebbe qui avait une température corporelle d'environ 38°C puis il a subi un test PCR à partir d'un écouvillonnage nasal avec résultats positifs pour la COVID-19 (The republic of Uganda ministry of health, 2020). A ce moment-là, les Émirats arabes unis n'étaient pas considérés comme un pays de catégorie 1, de sorte que les 84 autres voyageurs sur le même vol que le premier cas de l'Ouganda ainsi que d'autres personnes qui avaient voyagés aux Émirats arabes unis au cours des dernières semaines, n'étaient pas en quarantaine institutionnelle et avaient donc eu des contacts avec les membres de la communauté. Certaines personnes ont été testées, d'autres non. Parmi celles qui étaient testées, certaines sont revenues positives du COVID-19 (Ajari, 2020). Une quarantaine obligatoire de 14 jours a été introduite pour toutes les personnes voyageant en provenance des pays à haut risque, mais en raison des coûts élevés, certaines se sont échappées des centres de quarantaine. En raison de la menace d'avoir plus de cas importés, le 26 mars, le président de l'Ouganda a annoncé des mesures de confinement strictes, fermant complètement toutes les frontières ainsi que l'aéroport international. Tous les rassemblements publics étaient interdits et les écoles ont été fermées (Ajari, 2020). L'Ouganda est un pays enclavé et la plupart des marchandises entrent via les ports du Kenya et de la Tanzanie, au moyen des camions de cargaisons (Kadowa, 2020), cela a entraîné un inconvénient : car les chauffeurs de camion ont été autorisés à continuer à l'intérieur du pays, après avoir effectués les tests mais avant d'obtenir les résultats. Certains ont été testés positifs et avaient déjà eu des contacts avec des membres du public, d'où l'inconvénient. Au 30 mars 2020, le nombre de cas

en Ouganda était passé à 33, la plupart étant des cas importés de Dubaï, d'autres d'Afghanistan, des États-Unis d'Amérique et du Royaume-Uni. En outre, quatre cas de transmission communautaire ont été signalés, dont un bébé de 8 mois dont le père s'était rendu à Kisumu au Kenya et un commerçant qui n'avait aucun antécédent de voyage, entraînant ainsi des mesures plus strictes de suspension de toutes les activités et commerces à l'exception des marchés et magasins alimentaires établis, des hôpitaux et des pharmacies, interdiction de circulation des personnes par tous les moyens de transport et un couvre-feu.

Les patients présentaient des symptômes légers à modérés et certains étaient asymptomatiques avec une mortalité très faible (Ajari, 2020). Les symptômes incluent la fièvre, la toux, l'écoulement nasal, la faiblesse générale et difficulté à respirer.

La population Ougandaise est en grande partie jeune avec 48,1% de la population âgée de moins de 15 ans, et 49,4% entre 15 et 65 ans, avec seulement 2,5% au-dessus de 65 ans (Kadowa, 2020). Le plus grand nombre de cas observé, est dans la tranche d'âge de 30 à 39 ans et le plus bas chez les 90 ans et plus (Ministry of health, COVID-19 response info hub, 2021). Et selon les études d'Ajari et al, c'était l'explication probable de zéro incidence des décès en Ouganda, en raison du plus grand nombre de cas chez les jeunes (30-39ans) à partir de la date de découverte du cas index au 6 mai 2020, car le taux de mortalité augmente avec l'âge (Ajari, 2020). Pour mieux comprendre voire la figure suivante :

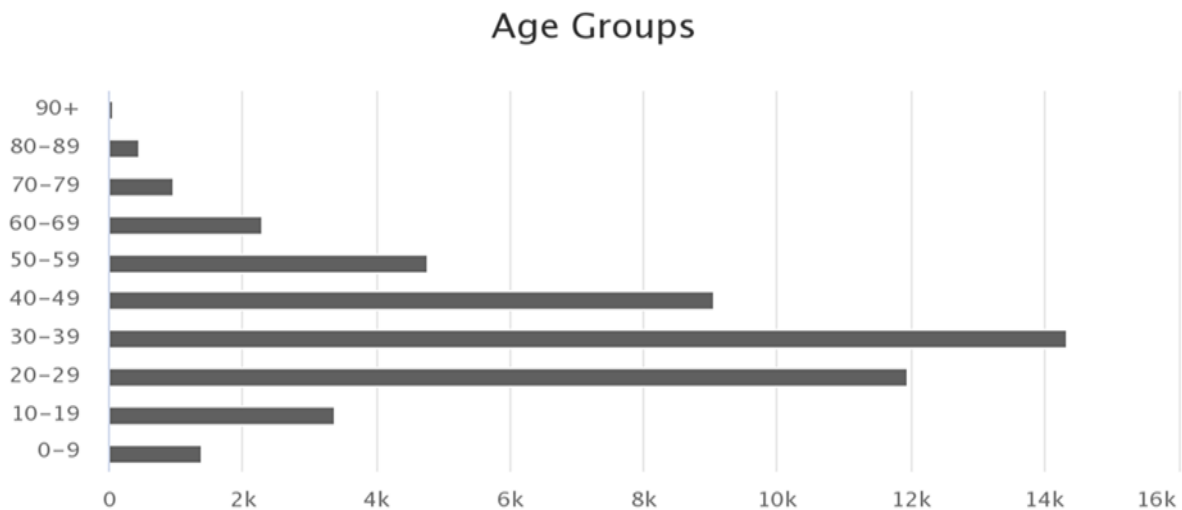


Figure 9 : Variation des cas confirmés positifs pour la Covid-19 par tranche d'âge en Ouganda.

Il est également observé que le pourcentage des femmes Ougandaises qui sont testées positives (38.84%) pour le SARS-CoV-2 est inférieur à celui des hommes (61.16%), comme illustré dans le diagramme ci-dessous (Ministry of health, COVID-19 response info hub, 2021) par rapport aux statistiques du 18/08/2021. De nombreux chercheurs soulignent que le comportement social des hommes est la raison de ces pourcentages (Ajari, 2020). Ainsi que la concentration plus élevée de récepteur ACE-2 chez les hommes que chez les femmes (Aggarwal, 2020).

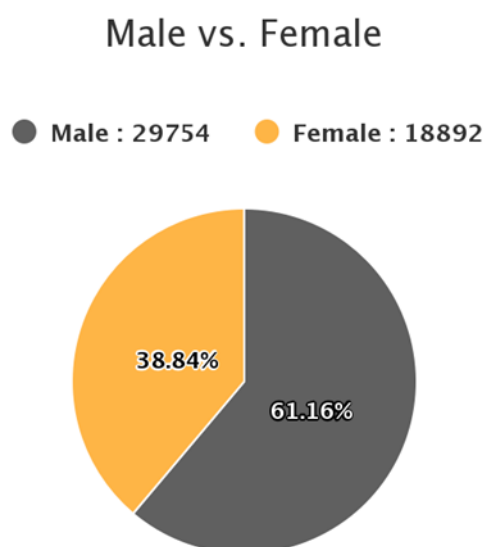


Figure 10 : Répartition des cas confirmés positifs pour la Covid-19 par sexe en Ouganda.

Selon le ministère de la Santé de l'Ouganda, 14 laboratoires sont accrédités pour effectuer des tests COVID-19 dans tout l'Ouganda et le plus grand nombre de cas est observé dans la région centrale : Kampala et Wakiso (Ministry of health, COVID-19 response info hub, 2021). Selon Ajari et al, ça pourrait être dû au fait que Kampala et Wakiso ont les densités de population les plus élevées en Ouganda, et se trouvent à proximité du seul aéroport international d'Entebbe et la plupart des centres de quarantaine et de traitement institutionnels se trouvent exactement à Kampala et Wakiso (Ajari, 2020).

La figure ci-dessous montre le nombre de cas de COVID-19 dans les 81 districts de l'Ouganda.

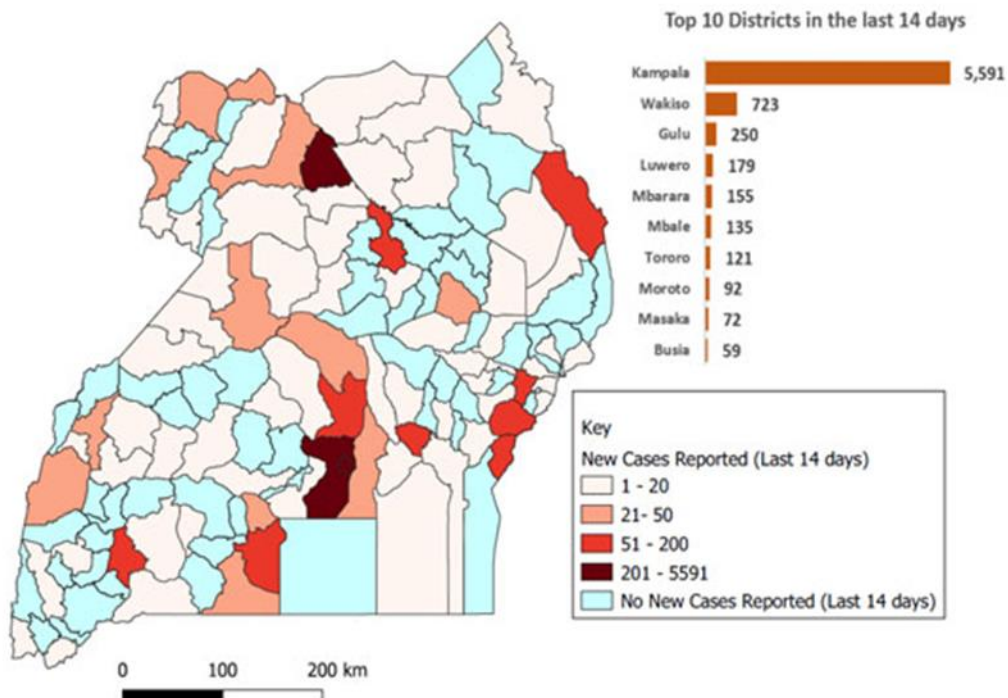


Figure 11 : Variation des cas positifs de Covid-19 dans les différentes régions en Ouganda.

Pendant la pandémie COVID-19, on a constaté que le nombre des cas confirmés par un dépistage et le taux de mortalité sont différent dans région à un autre. Ça peut être liée à plusieurs facteurs ; le risque de comorbidité et les variables démographiques, économiques et politiques, le pourcentage des personnes âgées dans la population, ainsi que la période de la propagation de virus car il a commencé de se propager dans certains pays plus tôt que d'autres (Sorsi, 2020). Pour voir les variations de nombre des cas de COVID-19 entre deux pays qui sont l’Algérie et l’Ouganda on a réalisé un histogramme on se basant sur les statistique de Our World in Data (Ritchie, 2021) entre la période Février 2020 à Août 2021.

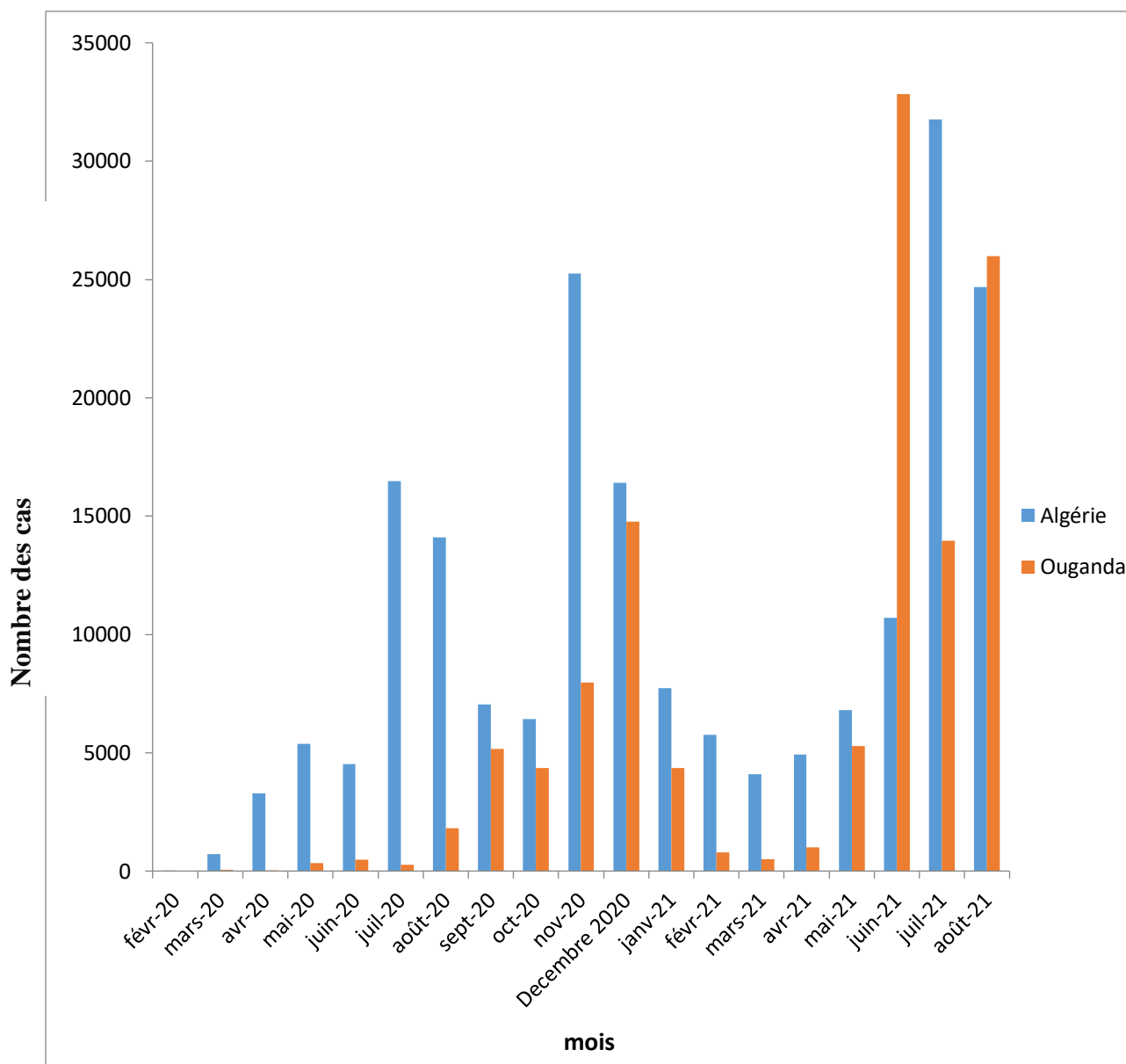


Figure 12: Evolution des cas de Covid-19 en Algérie et en Ouganda.

Dans une première vue on constate que le nombre des cas en Algérie à été presque toujours plus important par rapport au nombre des cas en Ouganda sauf dans 2 mois ; Juin 2021 et Août 2021, ainsi que la pandémie à débuter en Algérie plus tôt qu'en Ouganda.

Pour l'Algérie le nombre des cas était fluctuant dans les cinq premiers mois. Après on peut constater qu'il y a quatre pics observables, le premier était en Juillet 2020 où le nombre des cas dépasse les 15000 (16487) ce qui peut être expliqué par le confinement tardif et progressif ainsi que le fait que les gens ne respectent pas les mesures de protection, le deuxième pic était plus important que le premier où le nombre des cas atteint 25257 en Novembre 2020. Après ce pic, la propagation de la maladie continue à diminuer jusqu'à Mars 2021 (4100 cas),

soudainement une augmentation forte a été signalé en Juillet 2021 où le nombre était le maximale dans la période d'étude il atteint 31766 cas , à cause de l'apparition de nouveau variant delta qui est plus contagieux ce qui provoque une saturation des hôpitaux et un manque d'oxygène et donc un taux de létalité très élevé en Août il ya comme même une diminution mais pas très importante.

Dans l'autre côté, Ouganda à marquer des nombres bas fluctuant dans la période entre Février 2020 et Août 2020, due au confinement strict qui a été appliqué juste après l'annonce du premier cas. Puis, une évolution des chiffres à été observé dans laquelle le nombre des cas continua à augmenter jusqu'à atteint 14760 en Décembre 2020 dûe aux mesures de protection qu'ils n'étaient pas respectés durant les séminaires politiques, les grèves et les manifestations de peuple. Après le nombre est diminué dans les trois mois suivants de Février 2021 au Mars 2021, il atteint une valeur minimale de 510 cas. Puis une faible augmentation durant l'ouverture des écoles à été constaté en Mai 2021. Le nombre augmente fortement en Juin 2021 pour marquer la valeur maximale 32830 cas à cause de l'apparition de nouveau variant Delta et la surpopulation scolaire, ce nombre diminue après l'application de confinement.

1.2.2 Physiopathologie de la Covid-19

Le SARS-CoV-2 pénètre dans le corps via les cellules épithéliales nasales où il se réplique en se liant au récepteur ACE-2 de l'hôte. Puis il migre vers les voies respiratoires supérieures, les cellules infectées libèrent le motif C-X-C du ligand de chimio-kines 10 et des interférons ; $IFN\beta$ et $IFN\lambda$. Dans les cas graves rencontrés par certains patients, le virus envahit les cellules épithéliales alvéolaires de type 2 via le récepteur ACE-2 ; les pneumocytes infectés libèrent différentes cytokines et marqueurs inflammatoires. La cytokine storm agit comme un chimiotactique pour les neutrophiles, les cellules T auxiliaires CD4 et les cellules T CD8 cytotoxiques qui attaquent plusieurs organes, entraînant un syndrome de détresse respiratoire sévère, et une défaillance de plusieurs organes (Parasher, 2020).

Le schéma suivant donne une idée sur la physiopathologie de la Covid-19 ;

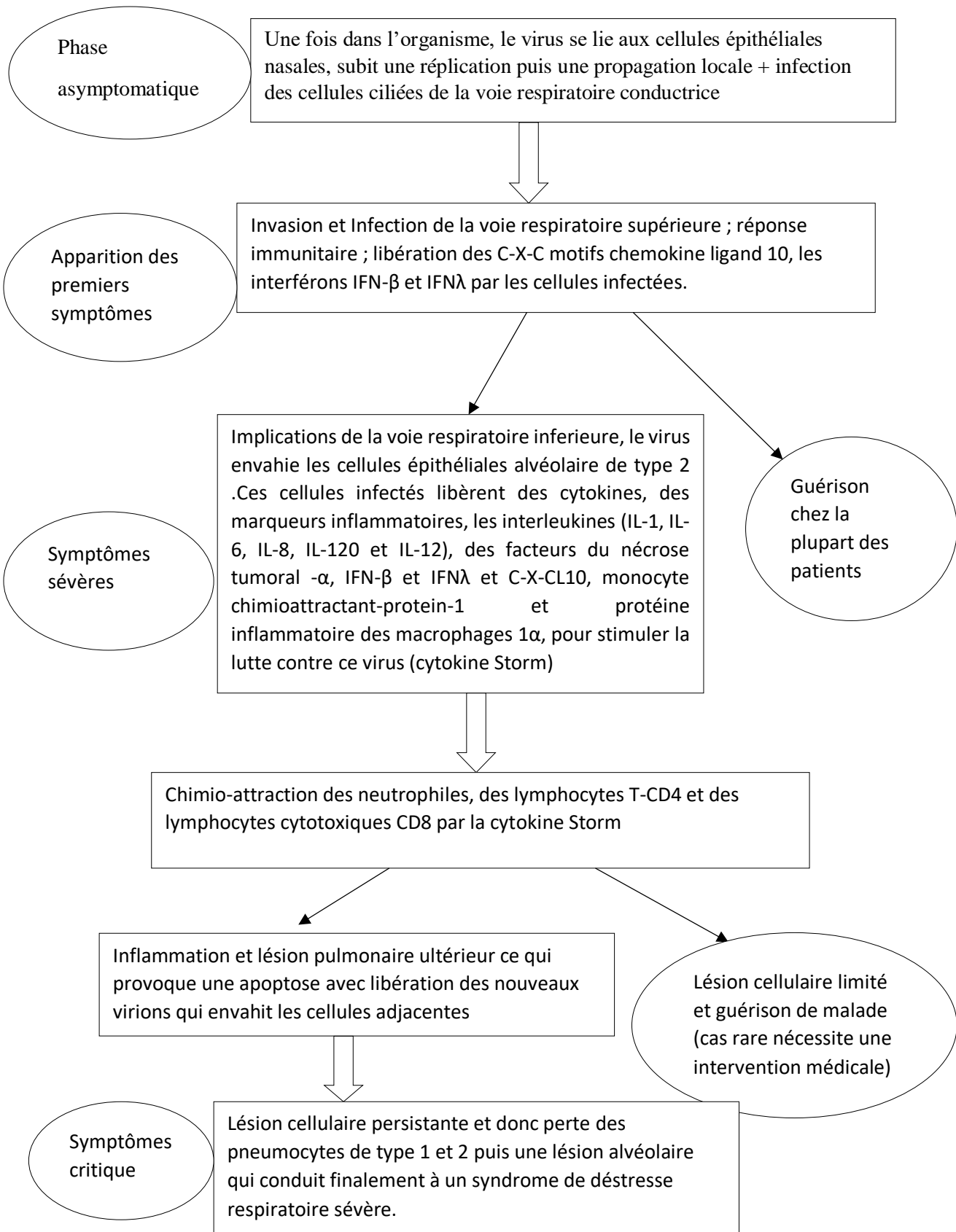


Figure 13: Physiopathologie de la COVID-19 (Parasher, 2020).

1.2.3 Manifestation clinique

Cette maladie peut être asymptomatique ou symptomatique. L'apparition des symptômes peut aller de 6 à 41 jours avec une moyenne de 14 jours après l'entrée du virus dans l'organisme, cela dépend l'âge et de l'état du système immunitaire de la personne infectée.

Les premiers symptômes sont modérés : fièvre, fatigue, maux de tête, anosmie, agueusie, la toux, écoulement nasal et diarrhée. Puis ils se développent pour devenir sévères : hémoptysie, lymphopénie, dyspnée et hypoxie. Et dans des cas très rares le système immunitaire n'arrive pas à lutter contre ce virus ce qui conduit à l'apparition de symptômes critiques comme le syndrome de détresse respiratoire aiguë (**SDRA**), le choc encéphalopathie, l'insuffisance cardiaque et tout cela peut conduire à la mort du patient (De Greef, 2020).

Il existe des similitudes générales dans les symptômes entre le SARS-CoV-2 et le bêta coronavirus précédent. Cependant, SARS-CoV-2 a montré certaines caractéristiques cliniques uniques qui incluent le ciblage des voies respiratoires inférieures comme en témoignent les symptômes des voies respiratoires supérieures comme la rhinorrhée, les éternuements et les maux de gorge. De plus, les patients infectés par SARS-CoV-2 ont développé des symptômes intestinaux comme la diarrhée, seul un faible pourcentage de patients MERS-CoV ou SARS-CoV présentait une diarrhée (Rothan, 2020).

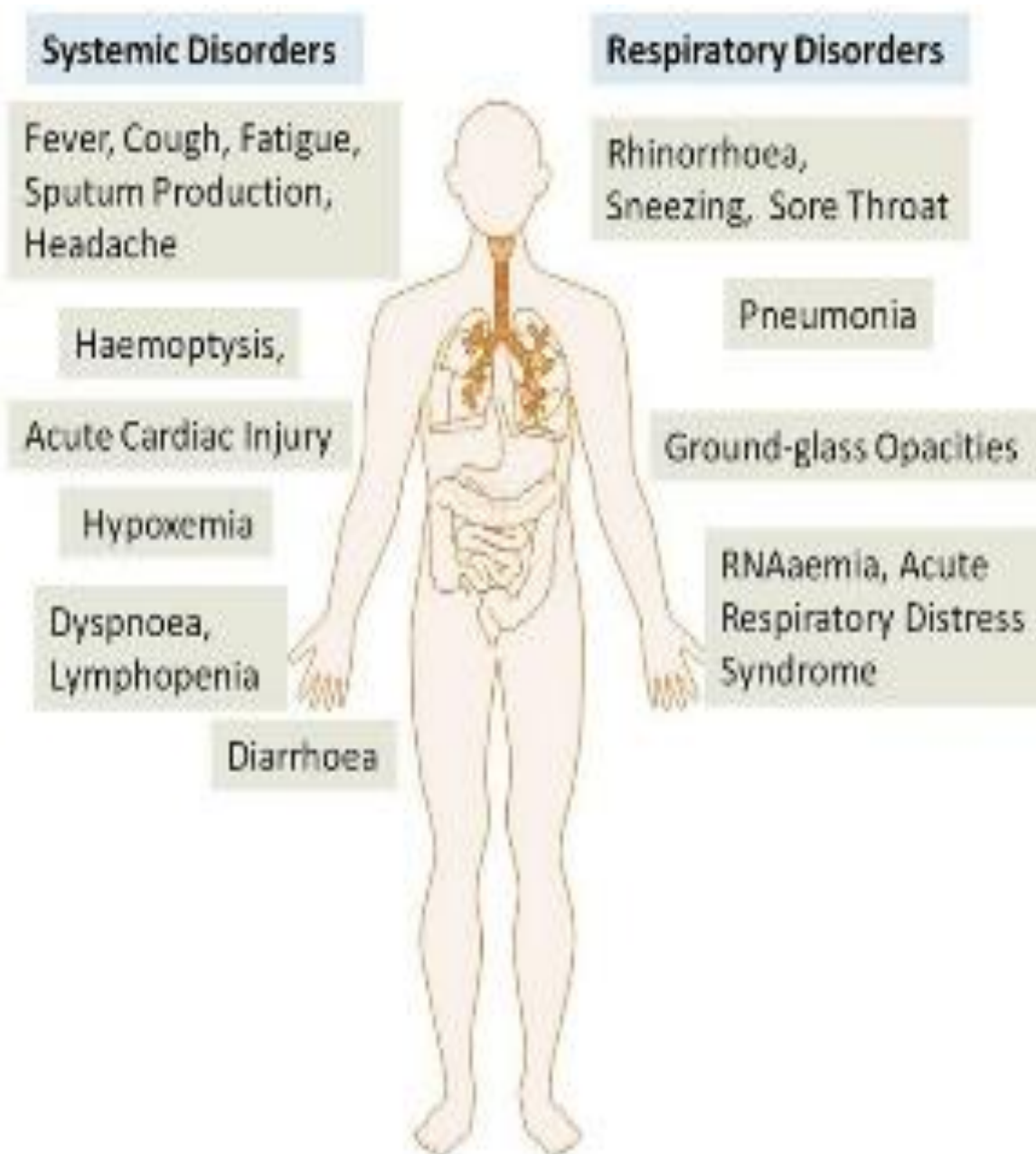


Figure 14 : Manifestation clinique de la Covid-19 (Rothan, 2020).

1.2.4 Préventions

Pour prévenir la transmission de la Covid-19 il faut que chaque membre de la société prenne les mesures de prévention pour se protéger et protéger ceux qui l'entourent :

- On laisse une distance d'au moins un mètre entre vous et les autres.

- Il faut qu'on considère le port du masque comme normal lorsque on est avec d'autres personnes. Pour que les masques soient aussi efficaces que possible, il est essentiel de les porter, de les ranger et de les laver ou de les jeter correctement.
- On évite les espaces clos, très fréquentés, où on sera en contact étroit avec d'autres personnes.
- On lève les mains régulièrement et soigneusement avec une solution hydro-alcoolique ou avec de l'eau et du savon.
- On évite de se toucher les yeux, le nez et la bouche.
- En cas de toux ou d'éternuement, on se couvre la bouche et le nez avec le pli du coude ou avec un mouchoir.
- Il faut nettoyer et désinfecter les surfaces fréquemment, en particulier celles qui sont régulièrement touchées.
- On reste chez soi lorsqu'on ne se sent pas bien (OMS, 2021).

Pour plus de détails voir :

- [ANNEXE 3: lavage des mains](#) (OMS, Friction lavage, 2006)
- [ANNEXE 4 : Prévention](#) (OMS, 2020)

1.2.5 Types de vaccins

Les vaccins entraînent le système immunitaire à l'aide d'une forme inoffensive du virus, et stimulent une réponse immunitaire sans provoquer de maladie. Chaque type de vaccin contre la COVID-19 fonctionne différemment pour introduire des antigènes du SARS-CoV-2 dans le corps humain. L'antigène déclenche une réponse immunitaire spécifique qui renforce la mémoire immunitaire, afin que le corps puisse lutter contre le SARS-CoV-2 à l'avenir (british society of immunology, 2021).

a- Vecteur viral comme vaccin contre la Covid-19

Ce type de vaccin contiennent une version affaiblie d'un virus inoffensif non apparenté (le vecteur viral) pour l'humain dans lequel une partie du matériel génétique du SARS-CoV-2 a été introduit. Lorsqu'elles sont administrées, les cellules humaines utilisent le matériel génétique pour produire une protéine virale spécifique, qui est reconnue par le système immunitaire et déclenche une réponse. Cette réponse renforce la mémoire immunitaire, afin que

le corps puisse combattre le virus à l'avenir ; figure 15. Exemple le vaccin Astra-Zeneca développe par de l'Université d'Oxford. (british society of immunology, 2021)

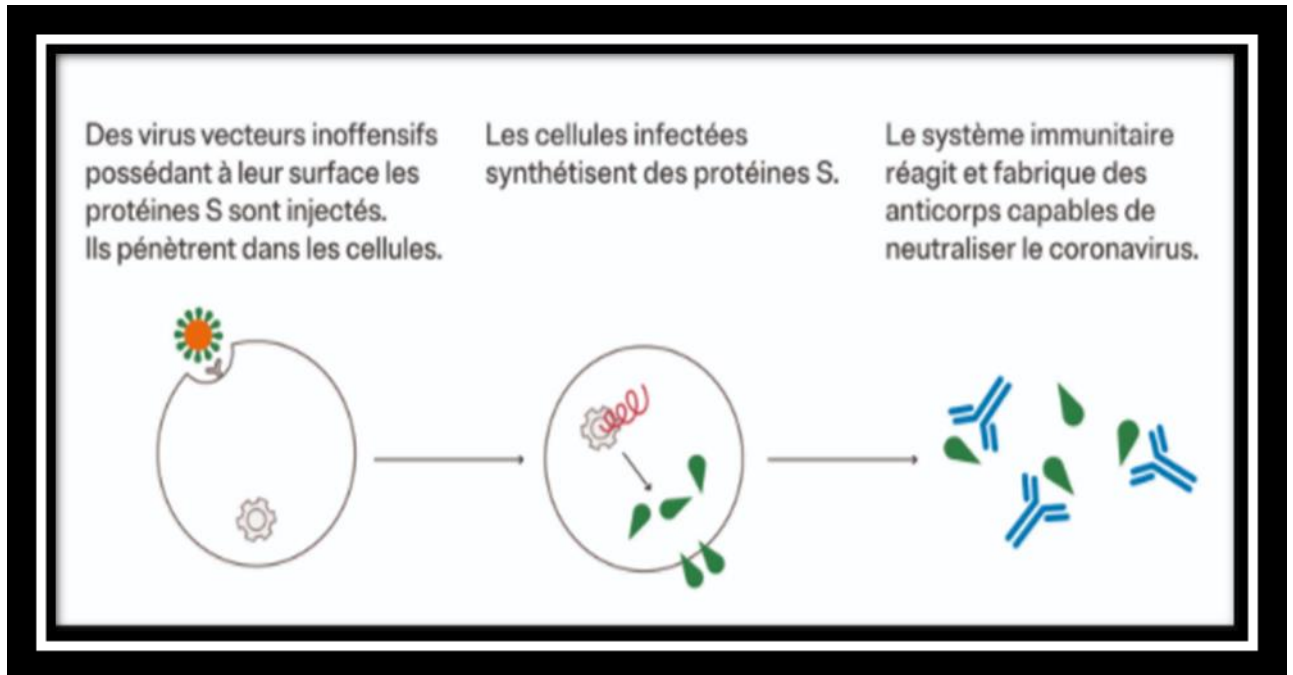


Figure 15 : Mécanisme d'action d'un vaccin de type vecteur viral pour la COVID-19 (Cité science , 2021)

b- Vaccins génétiques

Ces vaccins contiennent un segment de l'ARNmessenger du virus *SARS-CoV-2* entouré de lipides pour empêcher sa dégradation trop rapide et lui permettre ainsi de pénétrer dans les cellules, et non pas le virus entier, ils ne peuvent donc pas donner la COVID-19. Ces vaccins n'affectent pas, n'interagissent pas et n'altèrent pas l'ADN de l'homme car l'ARN messenger ne pénètre pas dans le noyau de la cellule. Mais plutôt dans le cytoplasme pour que les ribosomes de la cellule hôte fabriquent à partir de ce ARN une protéine de spicule (protéine S) identique à celle qui se trouve à la surface du *SARS-CoV-2*, ce qui va stimuler le système immunitaire de l'homme pour qu'il se défende en produisant des anticorps et des lymphocytes. Cette réponse renforce la mémoire immunitaire, afin que le corps puisse lutter contre le *SRAS-CoV-2* à l'avenir. Exemple : Les vaccins BioNTech développé par Moderna et Pfizer.

Les vaccins à ARN messenger sont efficaces de 60 à 80 % pour prévenir la COVID-19. Selon les données d'efficacité québécoises, ils sont efficaces à près de 98 % contre les hospitalisations. Des données récentes du Royaume-Uni et de l'Ontario suggèrent une efficacité plus faible contre le variant Delta à la suite d'une seule dose de vaccin COVID-19 ARN

messager. Par contre, après deux doses, la protection contre les infections symptomatiques est estimée à environ 90 % et celle contre les hospitalisations demeure très élevée, soit plus de 90 %. (msss,qc, 2021)

La figure suivante donne une idée plus claire sur le vaccin ARNm.

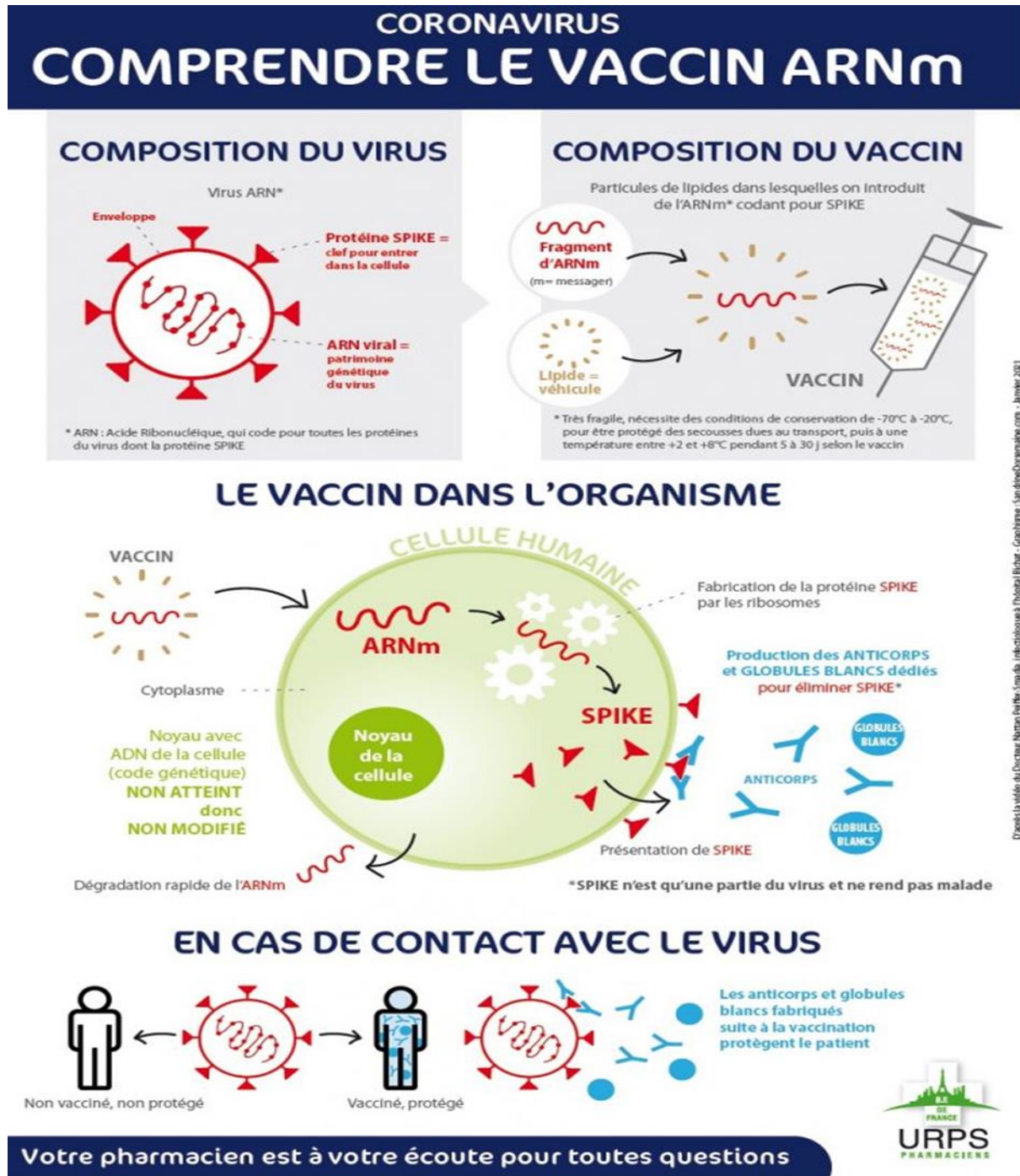


Figure 16 : Mécanisme d'action d'un vaccin génétique pour la COVID-19 (USPO, 2021)

c- Vaccins inactivés

Ce type de vaccin contient le virus *SARS-CoV-2* tué, qu'il est incapable d'engendrer des symptômes et de se multiplier, ce vaccin contient un adjuvant ; figure 17 qui de compenser la moindre activation de nos défenses. Cette vaccination est bien tolérée chez des personnes immunodéprimées et l'immunité est moins performante : c'est pour ça plusieurs injections ou rappels sont nécessaires. Après injection le virus inactivé est reconnu par le système immunitaire pour déclencher une réponse sans provoquer la maladie. Cette réponse renforce la mémoire immunitaire, afin que votre corps puisse lutter contre le *SRAS-CoV-2* à l'avenir. (Cité science, 2021)

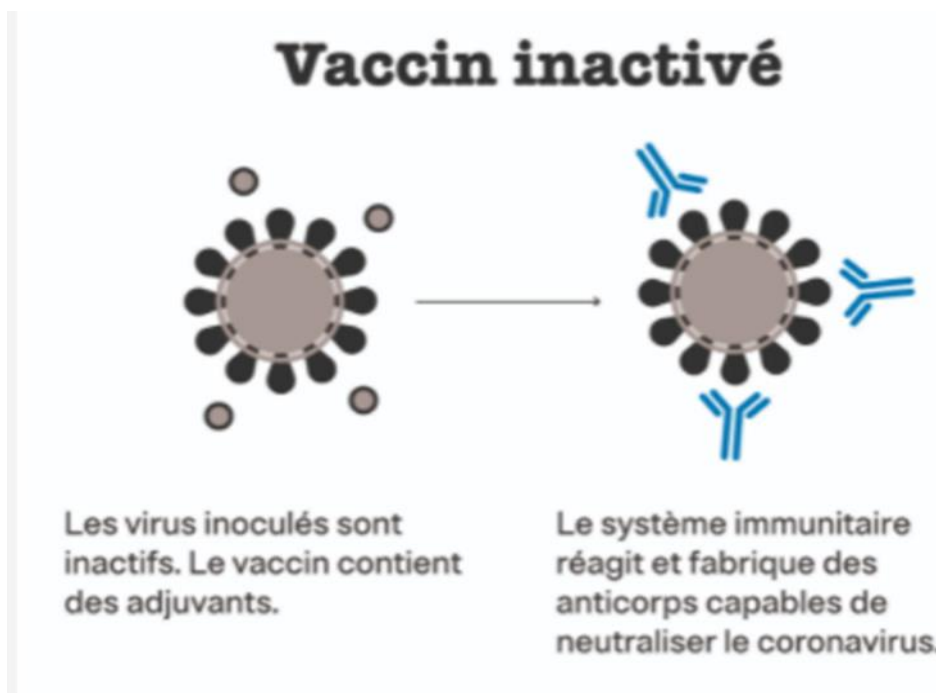


Figure 17 : Mécanisme d'action d'un vaccin inactivé pour la COVID-19 (Cité science, 2021).

d- Vaccins atténués

Ce type de vaccin contient le virus *SARS-CoV-2* affaibli. C'est l'un des plus anciens procédés. Il consiste à inoculer le microbe entier privé de son caractère pathogène. Il contient évidemment la protéine S et stimule donc le système immunitaire. Ces vaccins vivants atténués sont déconseillés aux personnes dont le système immunitaire est affaibli. Celles-ci sont en effet moins aptes à lutter contre des microbes qui bien qu'atténués se multiplient encore (Cité science, 2021), la figure suivante donne une idée sur le mécanisme d'un vaccin atténué

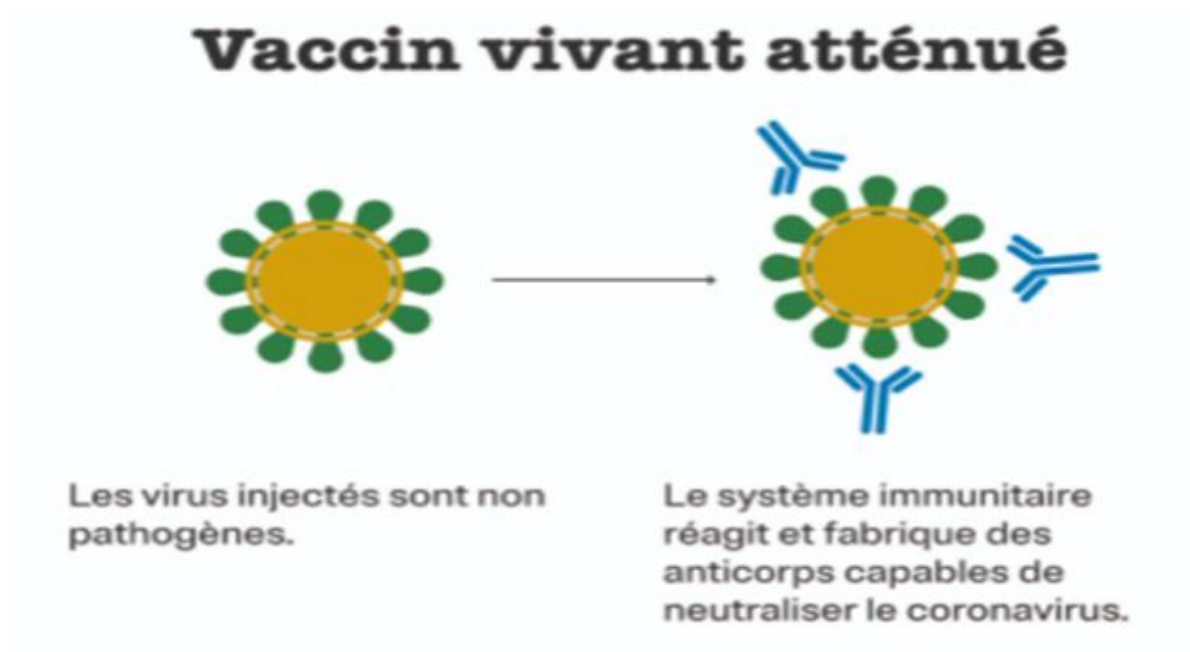


Figure 18 : Mécanisme d'action d'un vaccin atténués pour la COVID-19 (Cité science , 2021).

e- Vaccins protéiques

Les vaccins à protéine sous-unitaire contiennent la protéine S et non le virus entier. Certains contiennent une substance auxiliaire, un adjuvant pour induire une réponse immunitaire plus robuste. Après la vaccination, le système immunitaire de l'homme reconnaît que cette protéine est étrangère et produit des lymphocytes T et des lymphocytes B pour la neutraliser (msss,qc, 2021).

La figure ci-dessous simplifie l'explication du mécanisme d'action d'un vaccin protéique pour la COVID-19.

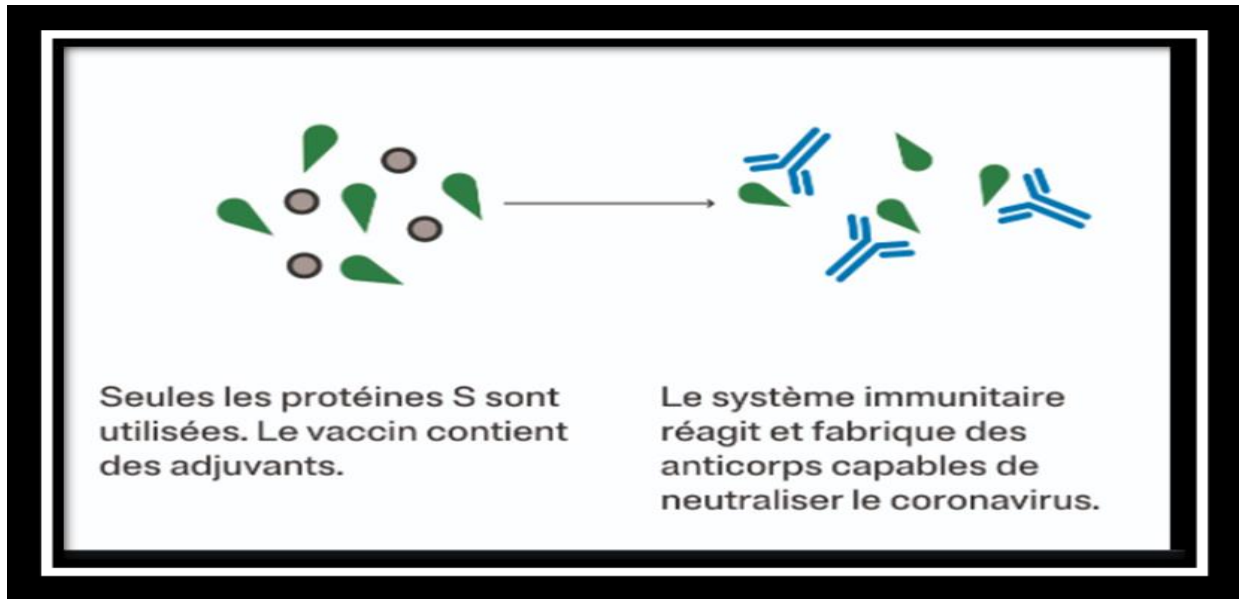
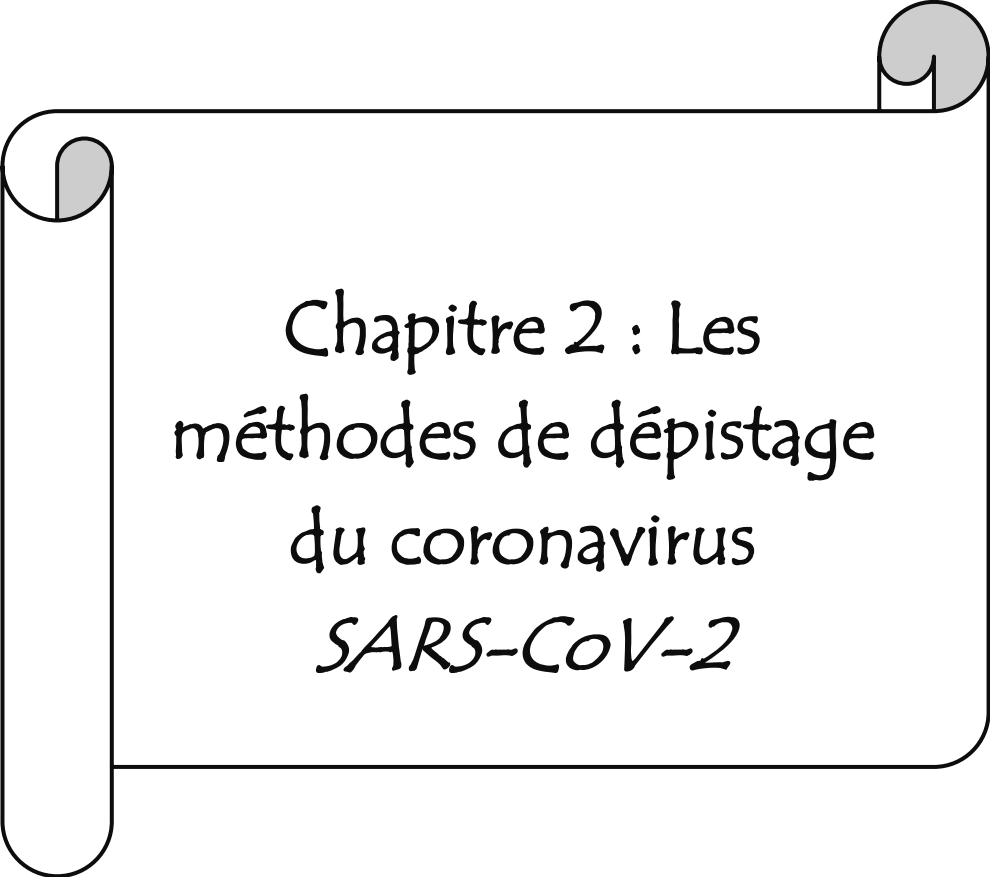


Figure19 : Mécanisme d'action d'un vaccin protéique pour la COVID-19 (Cité science , 2021).



Chapitre 2 : Les
méthodes de dépistage
du coronavirus
SARS-CoV-2

2.1 Méthode de dépistage immunologique

Les tests immunologiques pour le *SARS-CoV-2* sont des tests de dépistage direct pour la détection des antigènes viraux principalement la protéine S : la sous unité S1 et /ou le domaine de liaison au récepteur RBD, ou la protéine de nucléocapside N (Centers for disease control and prevention, 2021).

Ils sont majoritairement sous forme de Test de Diagnostic Rapide (TDR) basé sur l'immunochromatographie à flux latéral et la technique d'ELISA.

2.1.1 L'objectif des tests antigéniques

Ils sont destinés à accélérer et faciliter la réalisation du test et son rendu de résultat afin notamment de réduire les risques de transmission virale (Haute autorité de santé, 2020).

2.1.2 Principe

Ces tests sont basés sur une réaction antigène-anticorps pour produire un résultat qui s'affiche avec des signaux colorés observables si le test est positif (Haute autorité de santé, 2020).

2.1.3 Les antigènes cible

Un antigène est une macromolécule étrangère à l'organisme susceptible de déclencher une réponse immunitaire spécifique visant à l'éliminer (clinisciences, 2020).

Les antigènes cible dans le dépistage immunologique de coronavirus *SARS-CoV-2* sont :

- La protéine de nucléocapside N qui est la protéine la plus abondante des coronavirus. C'est une phosphoprotéine hautement immunogène. En raison de la conservation de la séquence de la protéine N et de sa forte immunogénicité, elle est choisie comme outil de diagnostic
- La protéine Spike « S ». La protéine S joue un rôle important dans l'infection par le SARS-CoV-2 et l'induction de la réponses immunitaire (clinisciences, 2020).

2.1.4 Détection des protéines antigéniques virales par les tests de détection rapide basée sur l'immunochromatographie à flux latéral

C'est un test rapide basé sur l'immunochromatographie à flux latéral pour la détection des antigènes de *SARS-CoV-2* à partir d'un échantillon nasal ou nasopharyngique selon les kits utilisés. Ils sont présentés sous forme des cassettes ou de kits. Des versions simples sont disponibles pour la réalisation du test à la maison, dans les pharmacies et les points de services (Gala, 2020).

I. Objectif

Le test de détection basé sur l'immunochromatographie à flux latéral est un test moins coûteux complémentaire et/ou alternatif de la Rt-qPCR, nécessaire au diagnostic qualitatif direct.

Il permet un dépistage direct rapide précis essentiel pour la détection de l'infection pour l'orientation médicale.

Il permet un dépistage à proximité du patient ou même à domicile.

II. Principe

Sur un support solide une membrane de nitrocellulose est placée, et il est divisé en plusieurs régions. En extrémité on trouve une zone de dépôt pour recevoir l'échantillon qu'il est migré par une force de capillarité fournie par la membrane vers la zone conjuguée où il y a des anticorps immobilisés (IgG ou IgM) spécifiques aux antigènes cibles marqués avec des nanoparticules d'or colloïdal et une réaction antigène (échantillon) anticorps (IgG, IgM marqués) s'installe.

Le complexe antigène-anticorps formé va migrer vers la zone de détection (ligne de test et ligne de contrôle) qui contient des anticorps monoclonaux immobilisés de type IgM et/ou IgG spécifiques aux premiers anticorps marqués donc ce sont des anti-anticorps qui vont capter le complexe anticorps-antigène précédant la condensation de ce complexe à ce niveau va générer une coloration visible à l'œil nu due à la nanoparticule d'or pour exprimer le test positif (Gallota, 2016).

III. Les composants des tests à flux latéral.

Les tests à flux latéral sont composés de plusieurs compartiments comme la figure ci-dessous montre :

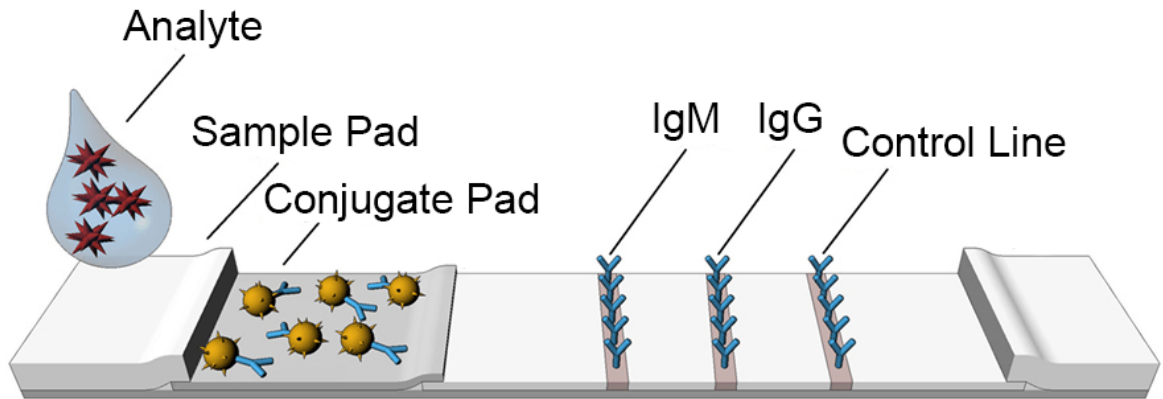


Figure 20 : Schéma du test immunochromatographique à flux latéral (JOYSBIO, 2021).

- **Les anticorps monoclonaux (IgG, IgM)** : Un anticorps monoclonal est un anticorps synthétisé in vitro par un seul clone. Les anticorps monoclonaux sont donc des molécules toutes identiques ayant toutes la même propriété de reconnaissance d'un épitope et d'un seul. Il fournit une spécificité très grande au système de détection, dans lequel il capte un complexe antigène-anticorps en se liant avec l'anticorps de détection (Maugras, 2021).
- **Les anticorps de détection** : sont des anticorps spécifiques au antigène cible, ils sont produits in vitro ou provenant de lapins, ils sont marqués par des nanoparticules d'or colloïdal ou de latex.
- **Les nanoparticules d'or colloïdal concentrées de marquage (AuNP)** : ils sont des marqueurs liés avec des anticorps de détection pour permet la visualisation de test à l'œil nu lorsque ces anticorps de détection se lie avec des anticorps de capture et s'accumule dans la zone de détection (Pan, 2018).
- **La membrane de nitrocellulose** : le compartiment de base car il permet la migration des anticorps de détection et d'échantillon par capillarité, et il sert comme un support pour l'immobilisation des anticorps de capture (Gallota, 2016).

- **La zone de dépôts (sample pad)** : est une zone imprégné de sels de tampons et autres liquides tensioactifs, pour contrôler la répartition d'échantillon, son débit de migration, et facilite son interaction avec le système de détection (Gallota, 2016).
- **La zone de conjuguée (conjugate pad)** : elle contient un tampon conjugué contenant des glucides qui jouent le rôle de conservateur et d'un agent de solubilisation lorsque les particules détectrices conjuguées sont séchées, les molécules de sucre forment une couche autour d'elles stabilisant leurs structures biologiques. Une fois l'échantillon pénètre dans le tampon conjugué, les molécules de sucre se dissolvent rapidement en transportant les particules détectrice dans le flux de fluide. Donc le rôle principale de cette zone est de retenir les particules détectrices et de les maintenir fonctionnellement stables jusqu'à ce que le test soit effectué (Gallota, 2016).
- **Tampon absorbant** : généralement constitué de filtre en cellulose, dont le rôle et d'évacuer le fluide à travers la membrane et collecte le liquide traité (Gallota, 2016).

IV. Procédure

Plusieurs kits sont disponibles dans le marché pour cette étude on choisit comme exemple

Le kit Diaquick Covid-19 Ag.

Ce test peut être réalisé de deux façons : un prélèvement d'un échantillon sur écouvillon nasopharyngique ou sur un échantillon écouvillon nasal (AximedFrance, 2021) .

a) Prélèvement nasopharyngique :

On insère l'écouvillon stérile dans le nasopharynx d'une narine et tourne 5 à 10 fois en frottant les parois du nasopharynx figure 21 . On évite l'excès de prélèvement.

Comment faire un prélèvement à visée diagnostique au niveau nasopharyngé ?

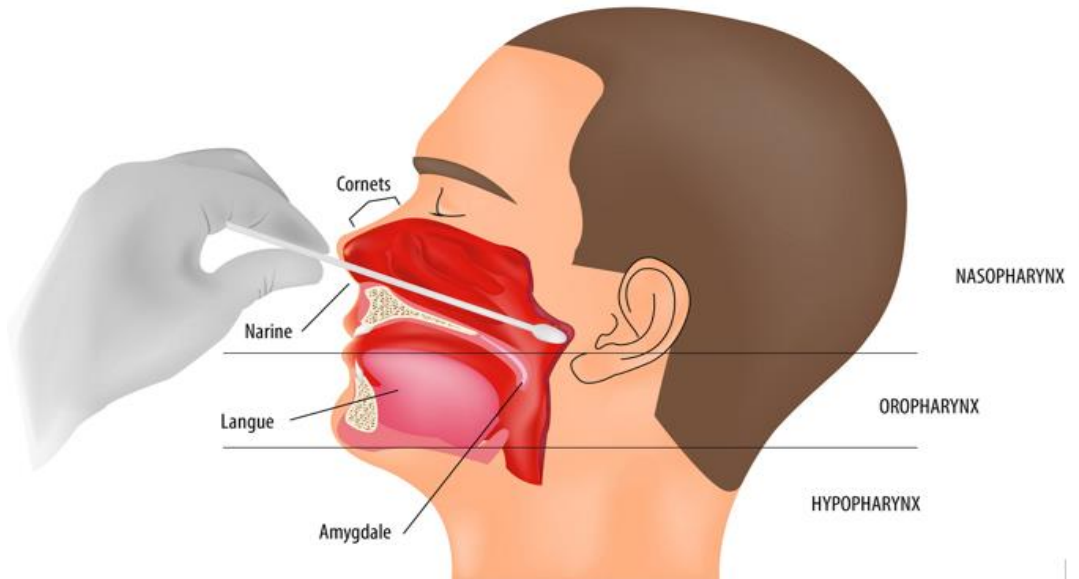


Figure 21 : Schéma montrant le prélèvement de l'échantillon nasopharyngique (DocDeclic, 2021).

b) Prélèvement nasal :

On insert l'écouvillon stérile dans le nez sur environ 2 cm dans la cavité nasale figure 10 ,on fait pivoter 5 à 10 fois pendant 20 second contre la paroi nasale, on ne force pas l'écouvillon afin de ne pas blesser le nez. On répète les manipulations dans la seconde narine avec le même écouvillon.

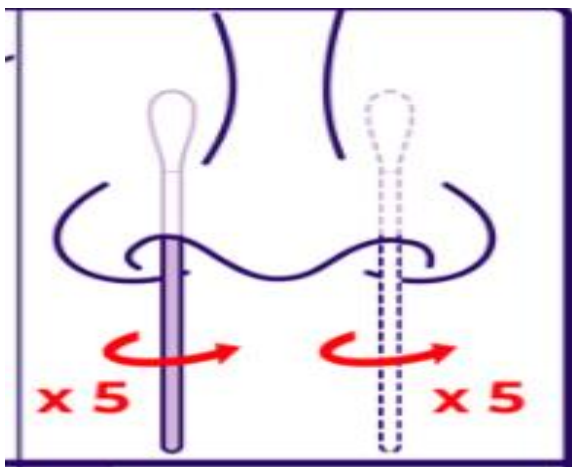


Figure 22 : Schéma montrant le prélèvement de l'échantillon nasal (NG BIOTECH, 2020)

Les étapes de la procédure sont schématisées dans la figure suivante :

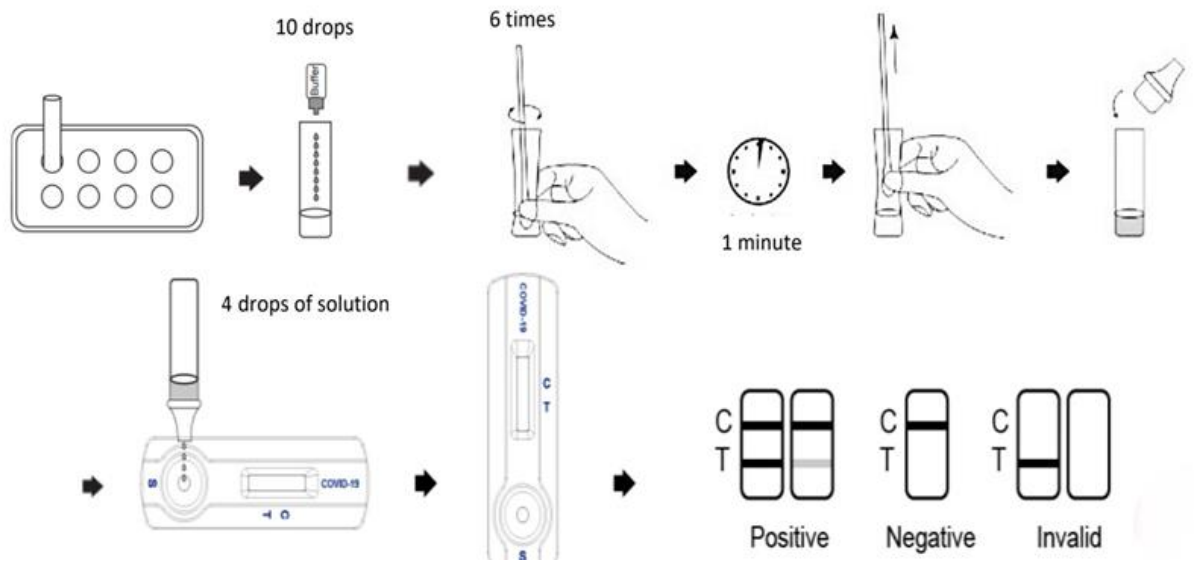


Figure 23 : Schéma du protocole de dépistage immunologique par l'immunochromatographie à flux latéral (AximedFrance, 2021).

- On effectue le test à température ambiante 15-30°C, l'échantillon doit être utilisé immédiatement jusqu'à 1 heure maximum.
- On met 10 gouttes de tampon d'extraction, dans un tube stérile.
- On décharge l'écouvillon contenant l'échantillon dans le tube on effectuant 6 mouvements rotatifs au minimum, puis on laisse le tube sans mouvement pendant une minute.
- Ensuite, on presse le tube avec les doigts et on déplace l'écouvillon de haut en bas au moins 3 fois pour expulser toute solution du prélèvement de l'écouvillon et puis on retire l'écouvillon.
- On ferme le tube par son bouchon.
- On retire la cassette de test de son étui, on verse 3 à 4 gouttes (75-100µl) de contenu de tube dans la cassette. Le test doit être effectué dans l'heure, le plus tôt sera le mieux.
- On démarre le chronomètre et attend que les lignes colorées apparaissent. Puis on lit le résultat après 15 min (AximedFrance, 2021).

2.1.5 Dépistage immunologique par la technique d'ELISA

Le test ELISA (dosage d'immunoabsorption par enzyme liée) est une méthode utilisée pour détecter de façon quantitative et qualitative les peptides, protéines, hormones, antigènes ou des anticorps dans un échantillon. Les tests d'ELISA sont réalisés sur les plaques de micropuits de polystyrène ou polyvinylchloride qui ont 96 ou 384 puits d'échantillons individuels. En cas de SARS-CoV-2 cette technique est utilisée dans le dépistage direct des antigènes en utilisant l'ELISA en sandwich ou la détection des anticorps sériques dirigés vers le SARS-CoV-2 par l'ELISA indirect (Slieman, 2020).

Il existe 4 types d'ELISA selon les éléments utilisés la figure 24 :

- L'ELISA direct : l'anticorps de détection primaire est celui qui porte une enzyme conjuguée (Direct ELISA).
- L'ELISA indirect : ce type utilise 2 types des anticorps ; l'anticorps primaire et l'anticorps secondaire qui porte l'enzyme conjuguée (Indirect ELISA).
- L'ELISA compétitive : l'anticorps présent dans le sérum compète avec l'anticorps conjugué avec l'enzyme pour l'antigène (Competitive ELISA).
- Sandwich l'ELISA : ce type utilise un anticorps de capture qui est immobilisé sur la phase stationnaire et un anticorps de détection, l'analyte est mis en sandwich entre ces 2 couches (Sandwich ELISA) (Slieman, 2020).

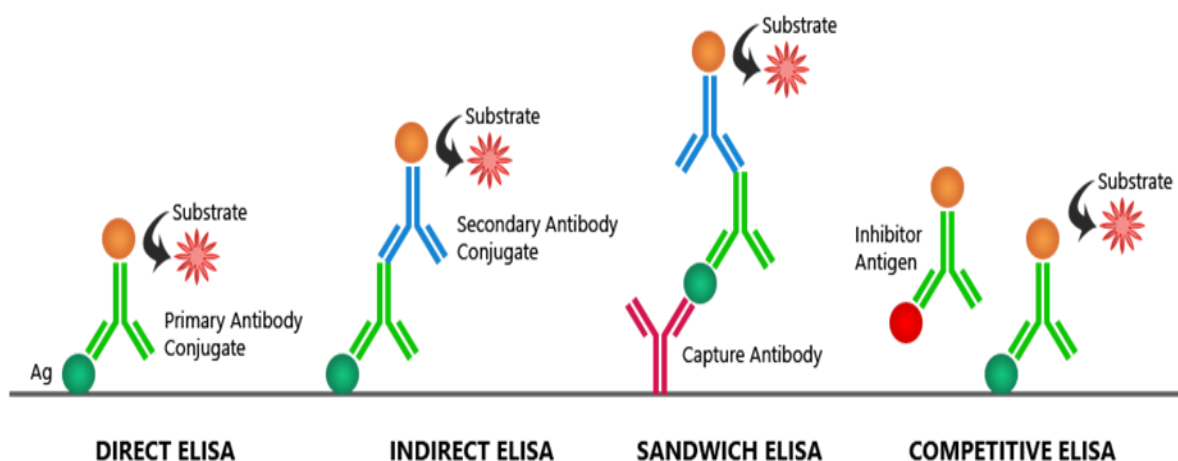


Figure 24 : Les différents types d'ELISA. (Booster antibody and ELISA experts, 2021)

I. Objectif

L'objectif consiste à détecter qualitativement et quantitativement l'infection virale de SARS-CoV-2 d'une façon directe c'est-à-dire recherche des antigènes viraux pour le diagnostic et l'orientation clinique.

A fournit un outil des études épidémiologique, et les mesures de prévention.

II. Principe

C'est une technique immuno-enzymatique de détection qui se fait en laboratoire de niveau BSL-2 ou BSL-3 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 un anticorps de détection. Le sandwich ELISA est utilisé pour détecter les antigènes du SARS-CoV-2 dans les échantillons (Carter, 2020). Un anticorps de capture est immobilisé sur une plaque multi-puits pour capter l'antigène d'intérêt. Cet antigène sera reconnu et lié à un anticorps secondaire de détection qui porte un enzyme une fois la réaction antigène-anticorps à lieu l'enzyme catalyse son substrat présent dans le milieu réactif pour donner un signal coloré détectable et mesurable (Abcam, 2021).

III. Les éléments du test ELISA

- **Les plaques revêtues** : les plaques en polystyrène à 96 puits revêtues d'un antigène ou d'un anticorps inactivé. Ce revêtement est le site de liaison pour les anticorps ou les antigènes dans l'échantillon. Les anticorps ou antigènes non liés dans l'échantillon sont éliminés par lavage après incubation.
- **Le diluant d'échantillon** : la plupart des tests nécessitent une dilution spécifique de l'échantillon avant de les placer sur les plaques revêtues.
- **Les contrôles** : le contrôle positif est une solution qui contient un anticorps ou un antigène. Le contrôle négatif est une solution sans anticorps ni antigène. Les contrôles aident à normaliser ou à standardiser chaque plaque. Des contrôles sont également utilisés pour valider le dosage et pour calculer les résultats des échantillons.
- **Le conjugué** : les conjugués d'ELISA sont des anticorps ou des antigènes marqués par une enzyme qui réagissent spécifiquement avec des analytes des échantillons liés aux

plaques ou avec l'anticorps primaire dans le cas d'ELISA indirecte. Le conjugué non lié est éliminé par lavage après incubation et avant l'ajout de substrat.

- **Le substrat** : pour les conjugués de peroxydase, le substrat est un mélange de peroxyde d'hydrogène et d'un chromogène qui réagit avec la partie enzymatique du conjugué pour produire une couleur.
- **Le concentré de lavage** : le concentré de lavage est une solution tamponnée contenant un détergent utilisé pour éliminer les matériaux non liés sur des plaques.
- **La solution d'arrêt** : la solution d'arrêt arrête la réaction enzyme-substrat et par conséquent le développement de la couleur (Mahdi, 2018).

IV. Procédure

Plusieurs kits ELISA sont disponibles pour chercher les antigènes de SARS-CoV-2 certains ciblent la protéine de la pointe S autre ciblent la protéine de nucléocapside N comme le cas de kit Genetex d'ELISA en sandwich pour la détection de la protéine de nucléocapside N de SARS-CoV-2.

Les étapes de la procédure sont schématisées dans la figure suivante :

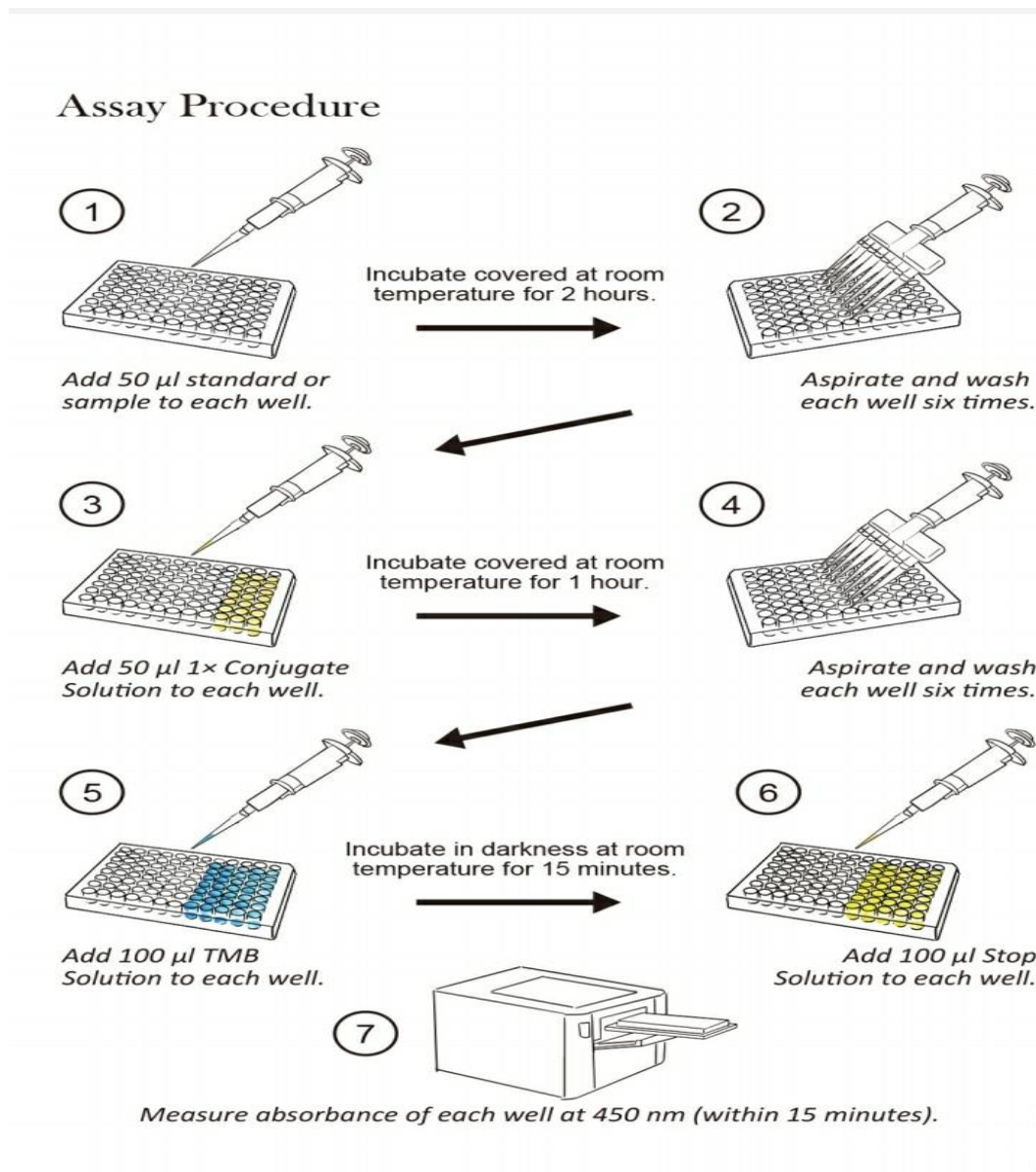


Figure 25 : Schéma explicatif de la procédure du test ELISA kit Genetex (Genetex, 2021).

1. On place tous les réactifs et l'échantillon sanguin à une température ambiante 18-25°C avant de commencer la procédure.
2. Dans un support on place le nombre approprié de bandes à 8 puits. On met des étiquettes selon la conception expérimentale. Il est recommandé d'exécuter tous les réactifs et l'échantillon en duplicata.
3. On ajout 50 µl de chaque réactifs et d'échantillons dans les puits appropriés de la plaque qu'on la couvre par le papier aluminium et on l'incube à une température ambiante pendant 2 heures ; figure 25, étape 1.

4. On aspire la solution des puits, et on réalise un lavage en distribuant 350 µl de tampon de lavage dans chaque puits qui sera par la suite aspiré complètement aussi. Cette étape doit être répétée 6 fois au total ; figure 25, étape 2.
5. On élimine le tampon résiduel en retournant la plaque puis la tapoter sur un papier absorbant.
6. On ajoute 50 µl de tampon conjugué dans chaque puits de la plaque qu'on couvre précédemment par le papier aluminium et on la laisse dans une température ambiante pendant 1 heure pour l'incubation ; figure 25, étape 3.
7. On répète la 4^{ème} étape ; figure 25, étape 4.
8. Dans chaque puit on ajout 100 µl de solution TMB (3,3' 5'5 tétra-méthyl benzidine, substrat de la peroxydase de raifort HRP), puis on couvre la plaque ; figure 25, étape 5. et l'incube à l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante,
9. On ajout 100µl de la solution d'arrêt dans chaque puits; figure 25, étape 6 et on lire densité optique à 450nm pendant 15 minutes; figure 25, étape 7.

Pour la préparation des réactif, des échantillons et des solutions, ainsi que plus information sur ce kit voir la notice sur : [ANNEXE 1 : Kit D'ELISA en Sandwich pour la détection de la protéine N du SARS-CoV-2](#)

2.2 Dépistage par les tests sérologiques

2.2.1 Définition et principe

Les testes sérologiques sont des tests qui permettent la détection de la réponse immunitaire à un agent infectieux.

Pour *SARS-CoV-2* ces tests permettent un mesure qualitative et/ou quantitative des anticorps sériques (IgM et IgG principalement) développés contre les antigènes viraux qui sont : la protéine N et la protéine S ; la sous unité S1 et le domaine de liaison au récepteur.

Ces tests sont réalisés soit aux laboratoires d'analyse médicale spécialisés (cas d'ELISA) ou aux laboratoires d'analyse de biologie délocalisée (cas du test de détection rapide des anticorps

basé sur l'immunochromatographie à flux latéral) à partir d'échantillon sanguin afin de déterminer les personnes immunisés déjà infectés (Gala, 2020).

2.2.2 Objectifs

L'objectif consiste à évaluer la sensibilité ou la résistance à une réinfection et étudier la Cinétique d'apparition des anticorps pour le développement des vaccins

C'est un outil aussi pour les études épidémiologiques ; si une personne est déjà infectée ou non (Gala, 2020).

2.2.3 Evolution des anticorps sériques

Les anticorps, sont des protéines sécrétées par une famille de cellules ; les lymphocytes B, dont la principale propriété est de reconnaître le « non-soi ». Les substances chimiques reconnues comme étrangères, qu'elles soient des associations de molécules ou des molécules simple, sont appelées antigènes. L'anticorps identifiera l'antigène grâce à la complémentarité entre une partie de l'anticorps et une partie de l'antigène, l'épitope. Chaque anticorps est synthétisé par une population cellulaire issue d'un seul lymphocyte B nommé clone. La synthèse dans l'organisme humain, lors d'une maladie infectieuse, d'anticorps dirigés contre un antigène à épitopes multiples conduit à la formation de différents anticorps dirigés chacun contre les différents épitopes de l'antigène. Ce mélange d'anticorps est appelé polyclonal (Maugras, 2021).

Chez l'homme, les personnes immunocompétents développent une réponse immunitaire adaptative suite à une infection par le *SARS-CoV-2*, par les cellules B et T due aux réponses humorales et réponses immunitaires cellulaires, respectivement. La réponse humorale comprend des anticorps dirigés contre les protéines S et N ; ce sont les IgM, les IgA, et les IgG conférant une bonne immunité protectrice durant une période qui peut aller jusqu'à 6 mois (Centers for disease control and prevention, 2021).

Les IgM commencent à apparaître de manière inconstante dans les 5 à 7 premiers jours suivant l'apparition des symptômes. Ils sont bien détectable après 15 jours ensuite ils diminuent assez rapidement jusqu'à disparition totale après 6 à 7 semaines. Plus tardivement les IgG deviennent

déTECTABLES d'une façon claire 15 jours après le début de l'infection, leur taux croît progressivement jusqu'à la cinquième ou sixième semaine après le début des symptômes.

Le taux des anticorps est différent d'un patient à un autre et dépend de l'âge, du sexe et du statut immunitaire (Gala, 2020)

2.2.4 Dépistage sérologique par le test immunochromatographiques à flux latéral

I. Objectif

L'objectif est de réaliser une détection rapide et simple des anticorps pour réduire le taux de reproductivité de la SARS-CoV-2 par la mise en jeu des pratiques nécessaires.

Ces tests sont utilisés comme un outil dans les études épidémiologiques (Aloisi, 2020).

II. Principe

Comme illustré dans la figure 26, une goutte de sang est placée dans la zone de dépôt (sample pad) et migre par capillarité le long d'une bandelette de nitrocellulose (nitrocellulose membrane) vers la zone conjugué (conjugated pad) sur laquelle des antigènes marqués (AuNP SARS-CoV-2 Antigen conjugate) sont déposés. En cas de présence d'anticorps dans le sang (SARS-CoV-2 IgM/IgG), ceux-ci se lient aux antigènes et les entraînent le long de la bande. Un anticorps anti-humain (Anti-Human IgM antibody, Anti-humain IgG antibody) greffé sur la ligne de test (test line) est capable de repérer et d'immobiliser le complexe antigène-anticorps formé précédemment. L'indicateur coloré s'active et une ligne apparaît pour signifier que le test est positif (Aloisi, 2020).

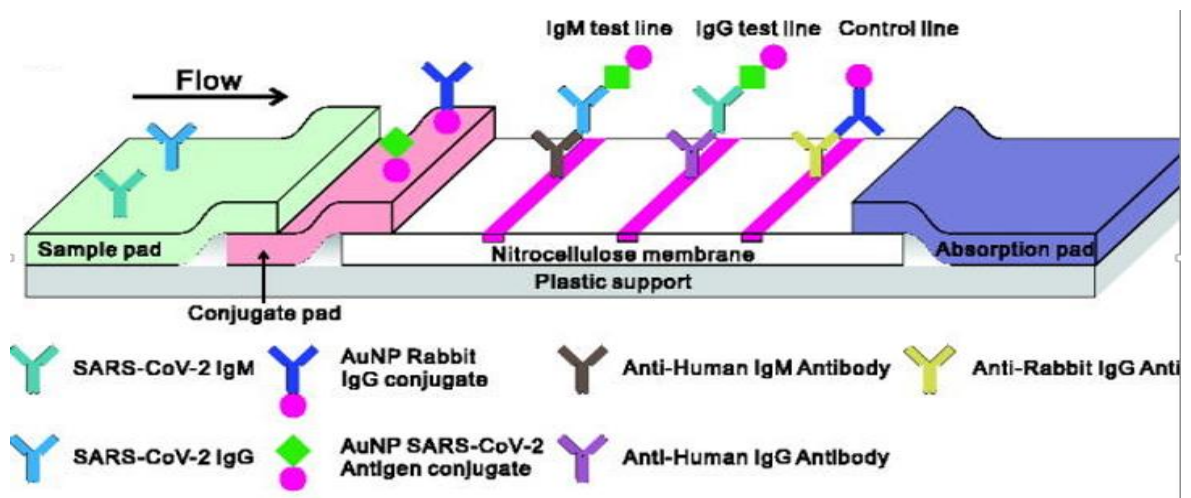


Figure 26 : Schéma montrant le dépistage sérologique par la méthode d'immunochromatographie à flux latéral (Peng, 2020)

III. Procédure

On a choisis le kit NG.TEST®/ IgG-IgM COVID-19 comme exemple pour ce test
 Les étape de procedure sont illustrés dans la figure 27.

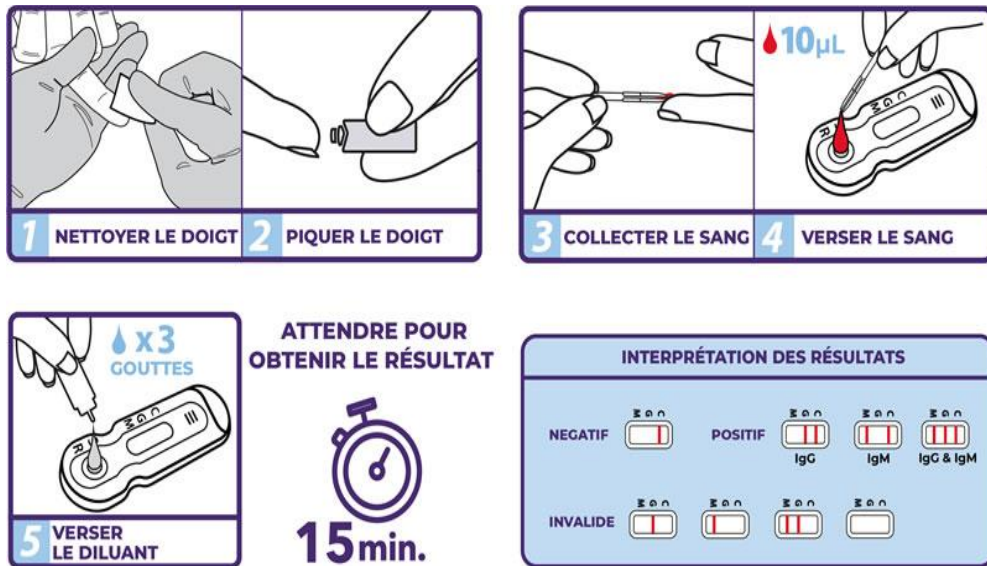


Figure 27 : Schéma montrant le protocole de dépistage sérologique par un test à flux latéral. (NG BIOTECH, 2020)

- A l'aide d'une lingette d'alcool stérile on désinfecte le doigt majeur ou annulaire et on laisse sécher; figure 27,étape 1.
- On pique l'extrémité latérale du doigt;figure 27,étape 2.
- On maintient la pipette horizontalement et on collecte le sang jusqu'au trait sans presser la poire ; figure 27,étape3 .
- On déposer le sang dans la zone de dépôt en pressant la poire puis; figure 27,étape 4.
- on ajout trois gouttes de solution tampon dans la même zone en tenant le flacon verticalement; figure 27,étape 5.
- On attend 15 minutes pour a lecture des résultats (NG.biotech laboratory, 2021).

2.2.5 Dépistage sérologique par la technique d'ELISA

I. Objectif

L'objectif consiste à détecter qualitativement et quantitativement des anticorps produits contre les antigène de *SARS-CoV-2* pour le diagnostic et l'orientation clinique.

Fournit un outil pour les études épidémiologique, et pour suggérer les actions qui doivent être mis en place pour réduire le taux de productivité de ce virus.

II. Principe

L'ELISA indirect est utilisée pour détecter les anticorps sériques IgG ou IgM dirigés contre les protéines du virus *SARS-CoV-2*

L'antigène spécifique du virus *SARS-CoV-2* (la protéine N contenue dans la nucléocapside virale ou le récepteur de liaison du virus dit RBD) est fixé pendant une nuit dans le fond des puits d'une plaque à 96 puits. Les anticorps présents dans l'échantillon vont se fixer spécifiquement sur l'antigène. Un anticorps de détection va ensuite fixer les anticorps humains à doser (détection). Ces anticorps de détection sont couplés préalablement à une enzyme qui catalyse son substrat présent dans le milieu réactif et 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 présente et donc à la concentration d'anticorps recherchés (Gala, 2020).

III. Procédure

Le kit choisi comme exemple pour la procédure de dépistage sérologique par la technique d'ELISA est le kit EUROIMMUN Anti-*SARS-CoV-2* ELISA (IgG).

- On transfère 100 µl de différentes solutions (contrôles positifs, contrôles négatifs, échantillon dilué) dans les puits de microplaque revêtu, avec la sous-unité S1 recombinée, puis on l'incube pendant une heure à 37°C.
- Après incubation il faut vider les puits et les laver en versant 300 µl de tampon de lavage qu'on laisse 30 à 60 secondes par cycle de lavage puis on vide les puits de la plaque à nouveau en la tapotant sur du papier absorbant.

- On ajout 100 µl de conjugué enzymatique (anti-humaine IGG marquée à la peroxydase) dans chaque puit de la microplaque et on l'incube 30 minutes à 37°C
- Après incubation on vide les puits et on les laves, en répétant la deuxième étape.
- On ajout 100 µl de solution chromogène/substrat dans chacun des puits de la microplaque, puis on l'incubé 30 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière direct de soleil.
- On ajout 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puit de la microplaque on suivant le même ordre et la même vitesse de l'ajout de chromogène.
- On ajoute la solution d'arrêt en on lire la densité optique à 450 nm dans 30 minutes (EUROIMMUN 2020).

2.2.6 Test de neutralisation

C'est un test qui utilise une dose fixe de virus qui détruit 100% des cellules sensibles dans le mélange de la réaction, après qu'un échantillon sanguin est ajouté, pour tester si le sang contient des anticorps neutralisants contre le virus pour protéger les cellules de l'infection virale (Institut Pasteur Paris, 2020).

Pour le *SARS-CoV-2*, il y a trois types de ce test qui sont applicables mais un seul est autorisé par la FDA (Food and Drug Administration).

Ces tests sont les suivants ;

- i. Les tests de neutralisation virale (VNT): utilisent des isolats cliniques de *SARS-CoV-2* ou des *SARS-CoV-2* recombinant exprimant des protéines reporters. Ce test est non autorisé il nécessite un laboratoire de BSL3.
- ii. Les tests de neutralisation par des pseudo-virus (pVNT) : utilisent des pseudo-virus recombinés (comme le *Vesicular stomatitis virus* ou les lentivirus) qui incorporent la protéine S du *SARS-CoV-2*. Ces tests basés sur des pseudo-virus recombinés peuvent être effectués dans les laboratoires BSL-2. Il n'existe actuellement aucun PVNT autorisé par le FDA.
- iii. Des tests de neutralisation compétitifs (cNT) : Ces tests ont également été développés et un a été autorisé par la FDA. Ce sont des tests d'anticorps de liaison conçus pour détecter qualitativement les anticorps potentiellement neutralisants, souvent ceux qui empêchent l'interaction du RBD avec le récepteur ACE-2. Le test imite l'interaction de RBD avec ACE-2 dans un format ELISA (semblable à RBD sur une particule virale se

liant à un récepteur ACE-2 de surface cellulaire) et la capacité des anticorps spécifiques du RBD à interférer avec l'interaction est détectée en utilisant une diminution de signal basé sur le reporter fusionné RBD. Ces tests peuvent être effectués dans les laboratoires BSL-2 car ils ne nécessitent pas de virus vivant (CDC, 2021).

I. Objectif

L'objectif consiste à détecter et mesurer et détecter les anticorps neutralisant anti SARS-CoV-2 en fin de savoir si le système immunitaire adaptative du patient est capable de combattre le virus du SARS-CoV-2 et aussi d'étudier l'efficacité des vaccins (CDC, 2021).

II. Principe

Le kit cPass™ de Genescript pour la détection des anticorps de neutralisation, est un outil de détection en format d'ELISA utilisant le domaine RBD purifié et le récepteur de la cellule hôte ACE2. Ce test est conçu pour imiter l'interaction virus-hôte par une interaction directe protéine-protéine entre le domaine RBD et la protéine ACE2. Dans une micro-plaque multi-puits, cette interaction peut être inhibée par des anticorps neutralisants s'ils sont présents dans l'échantillon, ils vont exercer leurs effets sur le domaine RBD pour empêcher l'interaction protéine-protéine.

Le kit contient deux composants clés : le fragment RBD recombinant *SARS-CoV-2* conjugué à la peroxydase de raifort (HRP) : (HRP-RBD) et la protéine du récepteur hACE2.

L'échantillon et le contrôle sont dilués par un tampon de dilution et pré-incubés avec le complexe RBD-HRP pour assurer que ce dernier soit lié aux anticorps neutralisants présents dans l'échantillon. Ce mélange est ensuite ajouté dans une plaque de capture déjà recouverte par la protéine hACE2.

Les RBD-HRP non liée et les RBD-HRP liée à l'anticorps non-neutralisant seront capturés sur la plaque. Tandis que le complexe HRP-RBD-anticorps neutralisant qui circule reste dans le surnageant est éliminé lors du lavage. Après un cycle de lavage on ajoute une solution substrat TMB (33' 55' tetraméthyle benzidine ; substrat de HRP) suivie par une solution d'arrêt, et un virage de couleur aura lieu (Genscript, 2020)

III. Procédure du test réaction de neutralisation

- Dans trois tubes séparer on mélange la solution de la peroxydase de raifort recombiné avec le domaine de liaison au récepteur (HRP-RBD) dilué avec l'échantillon dilué , le contrôle positif et le contrôles négatif, puis on incube les trois à 37°C pendant 30 minutes.
- On verse 100 µL des mélanges dans les puits qui lui correspondent, puis on couvre la plaque par un scellant et on l'incube à 37°C pendant 15 minutes.
- On retire le scellant et on réalise 4 lavages successifs par puits en utilisant 260 µL de solution de lavage.
- Dans chaque puits on ajoute 100 µL de solution du 3,3', 5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB), puis on incube la plaque à l'obscurité à 20 - 25°C pendant 15 min.
- Pour arrêter la réaction on ajoute 50 µL de solution d'arrêt dans chaque puits. On passe immédiatement à la lecture de la microplaque à 450 nm (Genscript, 2020).

2.3 Dépistage par les techniques moléculaires (PCR)

Les tests de dépistages basés sur les acides nucléique ou nommés les tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN) sont un moyen de diagnostic direct de l'infection *SARS-CoV-2*, dont la plus connue est la réaction de polymérisation en chaine (PCR) qu'elle est considée comme un test de référence pour la détection de l'ARN viral dans un échantillon.

La réaction de polymérisation en chaine (PCR) est une technique moléculaire de base développée par Kary B. Mullis une biochimiste américaine. Elle est utilisée in vitro pour amplifier des séquences cibles à partir d'une matrice d'ADN de manière exponentielle. La PCR est utilisée aussi pour l'obtention d'une grande quantité d'ADN qui est exigée dans plusieurs expériences et procédures en biologie moléculaire, en médecine légale, et pour les diagnostics médicaux (Anollés, 2003).

2.3.1 Principe de la PCR

Cette technique est basée sur les processus naturel qu'une cellule utilise pour répliquer un nouveau brin d'ADN (Encyclopaedia Britannica, 2019). La PCR est basée sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser le brin complémentaire d'un ADN servant de matrice à partir

d'une amorce. La technique se fait par une succession des cycles comportant trois étapes dans un thermocycler (Figure 28).

- i. La dénaturation de l'ADN a la chaleur 94°C pendant 20 à 30 secondes pour séparer les 2 brins d'ADN.
- ii. L'hybridation de chaque brin avec une amorce spécifique a ~55°C pendant 20 à 60 secondes.
- iii. Extension de ces amorces grâce à une ADN polymérase thermorésistante a 70°C pendant 30 à 60 secondes (Baumforth, 1998).

Les résultats sont détectés par électrophorèse sur gel, par des méthodes colorimétriques ou par le séquençage.

Les composants de la réaction de PCR sont : l'ADN polymérase thermostable, un tampon de réaction avec un pH entre 8,5 et 9 et composé des détergents et les sels, MgCl₂, 2 amorces, un fragment de l'ADN matrice cibles, les déoxynucléotides triphosphate (dATP, dCTP, dTTP, dGTP).

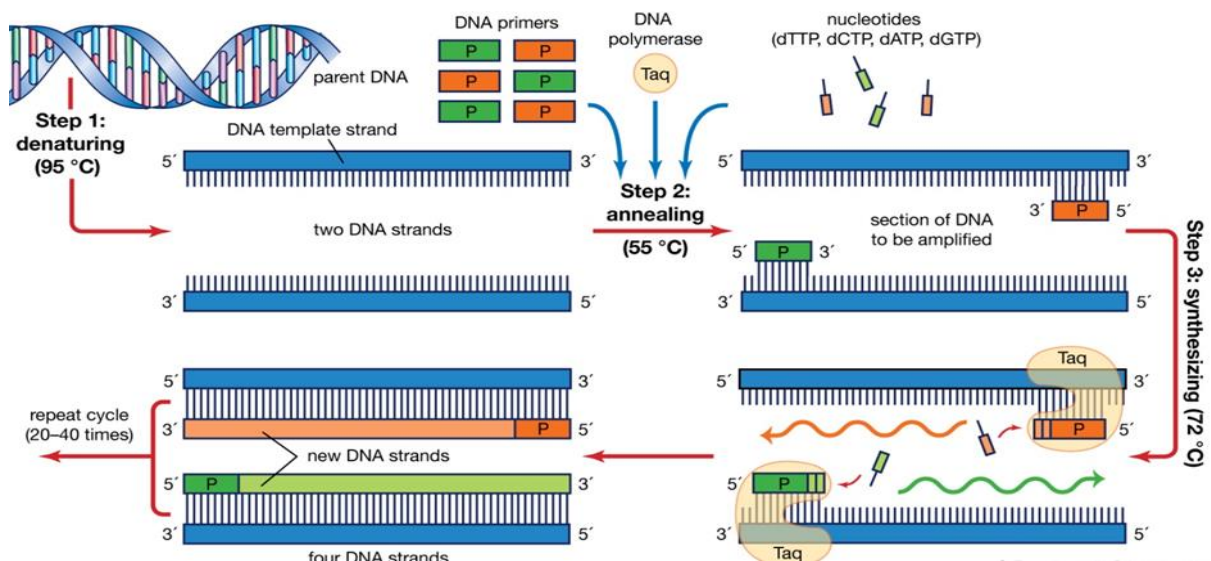


Figure 28 : Schéma récapitulatif des cycles d'amplification par PCR (Encyclopaedia Britannica, 2019)

Les prélèvements possibles sont :

- Prélèvement nasopharyngique qui est le plus significatif et le plus utilisé dans tous les cas.

- Prélèvement salivaire pour les cas symptomatique. Il est insuffisant pour les cas asymptomatiques. Il est utilisé pour les jeunes enfants ou pour les patients avec des troubles psychiatriques.
- Prélèvement des selles. Il est possible mais rarement utilisé, il est juste complémentaire parce que la positivité de test ne signifie pas que le patient est contagieux ou pas.

Il y a plusieurs types de PCR. Dans le cas de coronavirus *SARS-CoV-2*, on a une qui est largement utilisée et elle est devenue une nécessité pour confirmer l'infection. Il s'agit de la rétro-transcriptase PCR en temps réel ou RT-qPCR. Bien qu'elle soit devenue une méthode standard, il y a toujours le problème des faux-négatif surtout dans l'échantillon à faible charge virale. Les chercheurs explorent la faisabilité de la PCR numérique par gouttelettes (ddPCR) pour la détection clinique des acides nucléiques du *SARS-CoV-2* par rapport à la qRT-PCR en utilisant les mêmes ensembles d'amorces/sondes (Suo, 2020).

2.3.2 Reverse transcriptase PCR en temps réel

C'est un type de PCR où on distingue deux étapes clés: la première est la transcription reverse de l'ARN viral à acide désoxyribonucléique complémentaire (ADNc), et une seconde étape ou deux processus font en même temps qui sont l'amplification et la détection.

Il y a plusieurs types de kits RT-PCR soit selon le nombre des gènes cible, RT-PCR singleplex pour tester un seul gène et la RT-PCR multiplexe dans laquelle plusieurs gènes sont testés dans le même kit. Selon le nombre d'étapes ; le kit a une seule étape dans laquelle la rétro-transcription et l'amplification se font dans le même dispositif ; le kit à deux étapes où il y a deux dispositifs un pour la rétro-transcription et un autre pour l'amplification (Suo, 2020).

I. Principe

Cette technique commence par la conversion in-vitro de l'ARN génomique viral en ADNc par une ADN polymérase ARN dépendante, l'amplification de l'ADNc repose sur l'utilisation des petites amorces d'ADN qui sont complémentaires et spécifiques à des régions cible de l'ADNc.

L'ADNc est détecté à l'aide de sondes spécifiques au gène cible marquées au cours de l'élongation du produit d'amplification. Ces sondes émettent une fluorescence spécifique suite à leur hydrolyse par l'activité 5' nucléase de la Taq-polymérase ce qui provoque la séparation du rapporteur et de l'extincteur. La mesure de l'intensité de fluorescence en temps réel est relative à l'accumulation des produits d'amplification (Suo, 2020).

II. Objectif

L'objectif consiste à détecter qualitativement et quantitativement l'ARN du virus SARS-CoV-2 d'une façon directe et significative pour le diagnostic et la prévention (Carter, 2020).

III. Procédure générale de la RT-PCR

La figure suivante présente un résumé de la processus :

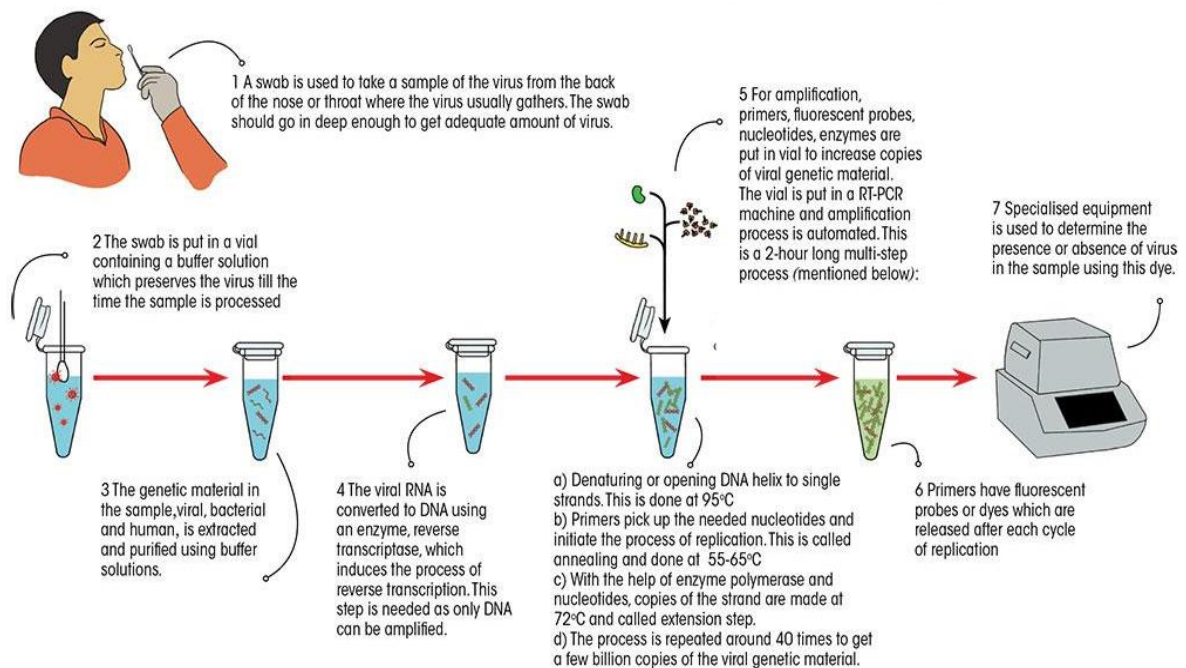


Figure 29 : Les étapes de la reverse transcriptase polymérase chain reaction : RT-PCR (Varshney, 2020).

- On réalise un prélèvement nasopharyngique par un écouvillon pour collecter l'échantillon.
- Dans une aliquote qui contient un tampon (pour maintenir le virus intact pendant le stockage ou jusqu'à l'utilisation) on décharge l'écouvillon.
- On extrait l'ARN viral.
- Par l'enzyme dit rétro-transcriptase on synthétise un ADN complémentaire (ADNc) à partir de l'ARN viral.
- On réalise une amplification PCR classique dans un thermocycleur, et on détecte la fluorescence.
- Par un équipement spécialisé On lit et analyse les résultats.

2.3.3 La PCR numérique en gouttelettes (ddPCR)

La PCR numérique est une nouvelle génération de réaction en chaîne par polymérase quantitative traditionnelle (qPCR), qui peut être utilisée pour la quantification absolue des acides nucléiques cibles. Dans un essai numérique, l'échantillon est compartimenté dans plusieurs petits bioréacteurs, dont chacun à zéro, une, deux, ou plus copies des acides nucléiques cibles. Chaque gouttelette a une zone encapsulée particulière qui empêche la contamination croisée entre les micro-bioréacteurs (Kojabad, 2021).

La PCR numérique à base de gouttelettes (ddPCR) est un type de PCR numérique qui utilise un fluide non miscible dans l'huile pour générer des gouttelettes sub-microlitres. Les acides moléculaires, peuvent être encapsulés de manière stochastique à l'intérieur des gouttelettes en tant que chambres de réaction. Un petit pourcentage des gouttelettes contient une copie ou aucune de la matrice d'acide nucléique et sont ensuite amplifiées dans chaque microgouttelette. Après amplification PCR de routine, les concentrations sont déterminées sur la base de la proportion de partitions non fluorescentes par distribution de Poisson (Kojabad, 2021).

I. Objectif

L'objectif consiste à détecter l'ARN viral d'une façon plus sensible, par ce que l'effet des inhibiteurs de l'amplification est très minimisé .

II. Principe

Tout d'abord, un mélange de réaction PCR comprenant des amorces cibles et des marqueurs fluorescents qui sont des sondes Taqman est préparé, les gènes cible sont le gène de la nucléocapside et le gène orflab qui code pour la polyprotéine ORF1ab. Ensuite, des gouttelettes d'émulsion eau-dans-huile sont générées à l'aide d'une puce micro-fluidique avec des canaux de croisement . Les gouttelettes générées d'un diamètre compris entre 90 et 120 µm peuvent contenir zéro, une ou plusieurs molécules cibles. La distribution des cibles dans les partitions suit une distribution de Poisson. Les gouttelettes sont ensuite chauffées par un thermocycleur pour l'amplification après les cycles thermiques, le nombre des molécules cible dans les gouttelettes qui contiennent une ou plusieurs des molécules augmentent jusqu'à des dizaines de milliards, de sorte que le signal fluorescent dans les gouttelettes peut être détecté. Ensuite, les gouttelettes sont contrôlées par un système de détection photoélectrique composé de lasers et de tubes photomultiplicateurs.

Selon l'amplitude du signal, chaque goutte est classée comme positive ou négative. En utilisant la distribution de Poisson, la fraction de gouttelettes positives est calculée pour déterminer le nombre absolu de copies de molécules d'acides nucléiques cibles dans le mélange réactionnel d'origine.

III. Procédure générale de la ddPCR

La figure suivante présente un résumé de la procédure de la ddPCR.

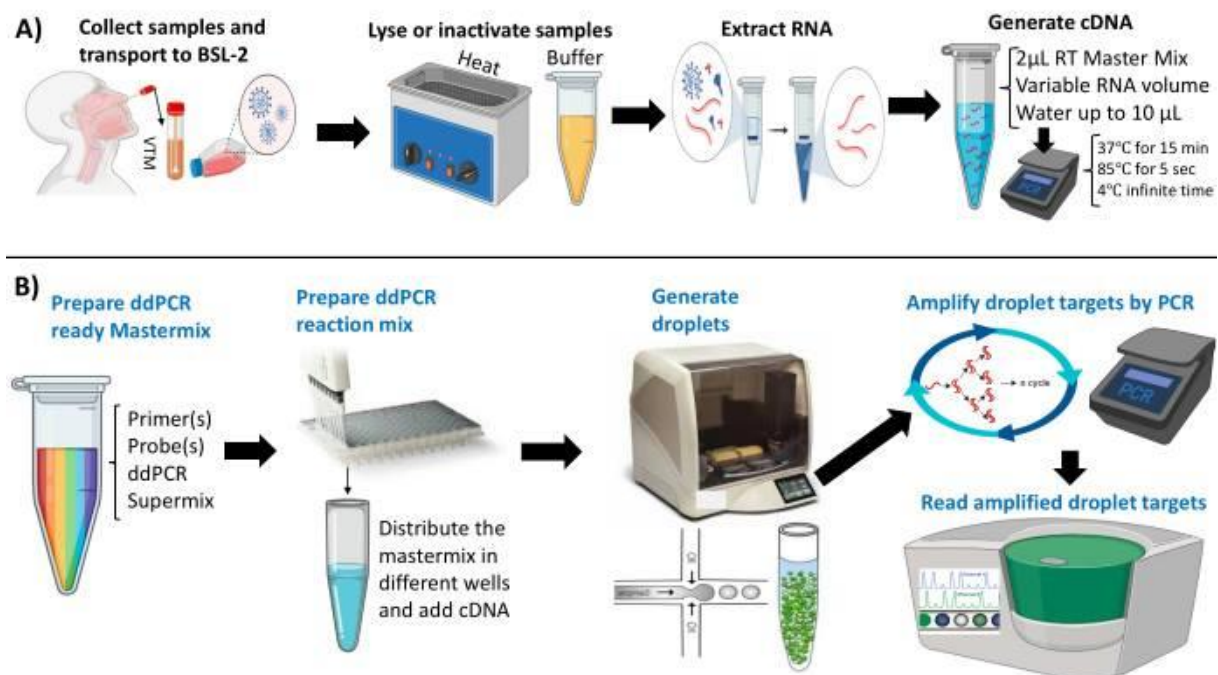
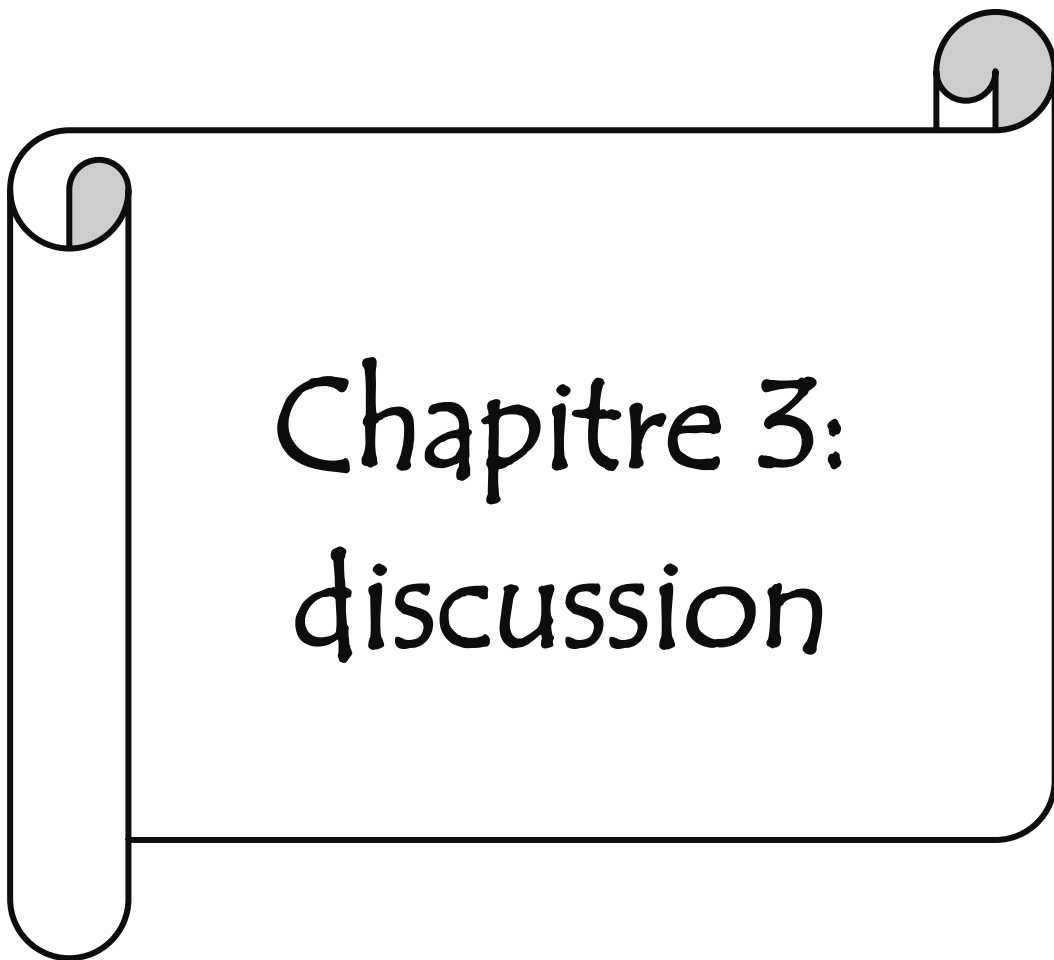


Figure 30 : Procédure de la ddPCR (Nyaruba, 2021).

- A l'aide d'un écouvillon on réalise un prélèvement nasopharyngique pour collecter les échantillons qui vont être transporté par la suite aux laboratoires de biosécurité niveau 2 (BLS-2).
- On lyse ou inactive les échantillons par l'application d'un choc thermique puis On les mets dans un tampon.
- On extraire l'ARN viral.
- Par un enzyme de rétro-transcription on synthétise un ADN complémentaire (ADNc) à partir de l'ARN viral.
- On ajoute des sondes marquées et les amorces pour préparer le super-mix

- On prépare le mélange réactionnel PCR Taqman, on distribuant le super-mix dans les différents puits puis on ajoute l'ADNc.
- Par un générateur des gouttelettes on génère les gouttelette d'amplification.
- On lance amplification PCR classique.
- On passe a la lecteur des résultats par équipements spécialisés (Nyarubaba, 2021).



3.1 Dépistage par les techniques immunologiques

3.1.1 Le test immunochromatographique à flux latéral

I. Résultats

La lecture des résultats vous offre la possibilité de déterminer la présence des antigènes du virus SARS-CoV-2, comme l'indique la figure 31 ;

- Lorsqu'une bande colorée apparaît au niveau de la ligne de lecture T, ainsi qu'une bande colorée au niveau de la ligne de contrôle C, **le résultat est positif**. L'intensité de la ligne colorée au niveau de la ligne T dépendra de la quantité d'antigènes du virus présents dans l'échantillon.
- Lorsqu'une bande colorée apparaît au niveau de la zone de contrôle C et aucune autre bande n'est présente, **le résultat est négatif**.
- Lorsqu'une bande colorée apparaît au niveau de la zone T, et aucune bande au niveau de la zone C. Ou si aucune bande n'apparaît sur la cassette, **le test n'est pas valable** (AximedFrance, 2021).

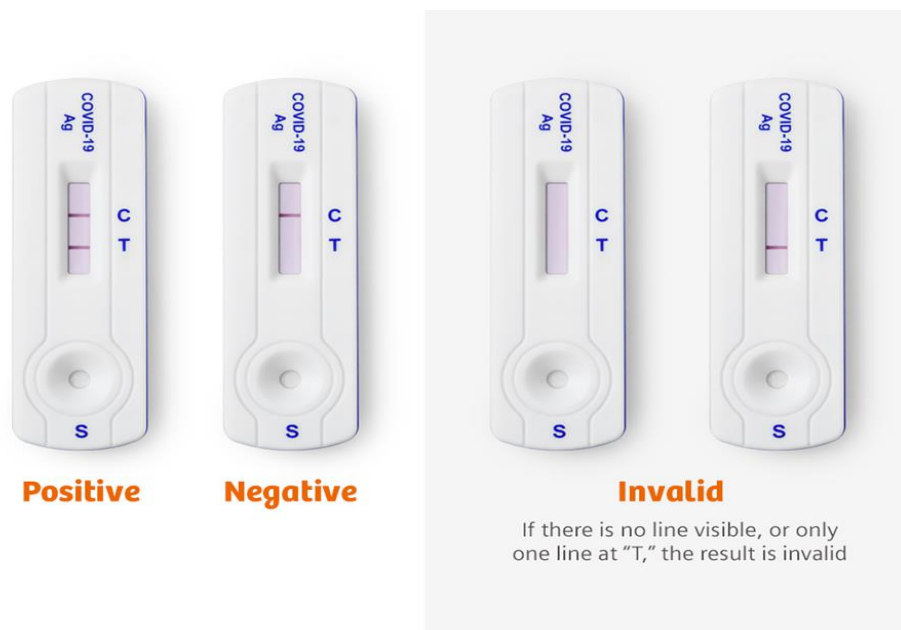


Figure 31: Résultats observés avec les tests immunologiques à flux latéral (Clinitest, 2021).

On vérifie la présence de la bande colorée de contrôle (C), parce qu'elle garantit que le prélèvement était assez important. On n'interprète les résultats qu'après 20 minutes.

Un résultat négatif ne garantit pas obligatoirement que le patient ne soit pas infecté par le virus *SARS-CoV-2*. Le résultat dépend en effet des conditions de prélèvement et notamment de la durée d'incubation.

La période d'incubation est de 1 à 14 jours, mais principalement de 3 à 7 jours. Le test devra donc être idéalement réalisé dans ce laps de temps.

II. Avantages du dépistage immunologique par le test immunochromatographique à flux latéral

- Le dépistage immunologique par les tests d'immunochromatographie à flux latéral permet une détection des antigène spécifique du *SAR-CoV-2* d'une façon rapide (10-30 minutes), simple (procédure simple et lecture sans instruments) et moins couteux avec une bonne fiabilité et une spécificité élevée (>97 %). Ce test est donc utile en particulier lorsque des décisions rapides doivent être prises, par exemple tester les voyageurs à l'aéroport ou aux frontières d'un pays, sur les lieux de travail, tester les agents de santé publique et appliqué dans les écoles.
- Le dépistage immunologique par les tests d'immunochromatographie à flux latéral offrent la possibilité d'élargir l'accès aux tests et de réduire les délais de diagnostic en permettant un dépistage décentralisé des patients qui présentent des symptômes précoces.
- Les TDR-Ag offrent une bonne performance chez les patients qui ont une charge virale élevée, ce qui est souvent le cas dans la phase pré-symptomatique (1 à 3 jours avant l'apparition des symptômes) et dans la phase symptomatique précoce (pendant les 5 à 7 premiers jours de la maladie). Cela offre la possibilité d'établir un diagnostic précoce et d'interrompre rapidement la transmission du virus grâce à un isolement ciblé et un regroupement des cas les plus infectieux et de leurs contacts proches.
- Les résultats TDR-Ag sont suffisants pour permettre une lutte efficace contre les infections dues aux valeurs prédictives positives et négatives.
- Au contraire des autres tests les tests TDR-Ag ne nécessitent pas une réfrigération et donc leur stockage est facile.

III. Inconvénients du dépistage immunologique par le test immunochromatographique à flux latéral

- Durant le dépistage immunologique par le test immunochromatographique à flux latéral les réactions croisées avec d'autres espèces dans la matrice d'échantillons sont très probable ce qui réduit la spécificité de test.
- Pour la réalisation d'un test de détection rapide des antigènes, il faut que l'échantillon liquide avoir une viscosité qui se situe dans une certaine plage car la flux de l'échantillon a une effet sur la mélange de l'échantillon avec les réactifs immunologique dans la zone de conjuguée et l'efficacité de la réaction.

IV. Limites du dépistage immunologique par le test immunochromatographique à flux latéral

- La sensibilité des tests de détection rapide des antigènes (TDR-Ag) est moins faible par rapport aux techniques d'analyse des acides nucléiques (TAAN).
- Les tests de détection rapide des antigènes (TDR-Ag) du *SARS-CoV-2* sont très peu nombreux à avoir fait l'objet d'un examen réglementaire rigoureux. Un kit permet d'effectuer une seule réaction et ils sont à usage unique.
- Les tests de détection rapide des antigènes (TDR-Ag) réalisés à partir des échantillons des voies respiratoires supérieures (écouvillons nasaux ou nasopharyngique) semblent avoir une sensibilité très variable.
- La probabilité d'avoir des faux négatifs avec les TDR-Ag est plus élevée chez Les patients qui consultent plus de 5 à 7 jours après l'apparition des symptômes parce que la charge virale dans ces cas est très faible.

Tous les échantillons ayant donné des résultats positifs aux TDR-Ag doivent être envoyés aux laboratoires disposant des moyens nécessaires pour effectuer des tests TAAN à des fins de confirmation (OMS, 2020).

3.1.2 La technique d'ELISA pour la détection des antigènes

Le test ELISA donne trois types différents de données :

- **Données quantitatives** : les données ELISA peuvent être interprétées par rapport à une courbe standard (une dilution en série d'un antigène connu et purifié) afin de calculer avec précision les concentrations d'antigènes dans divers échantillons.
- **Données qualitatives** : les données ELISA peuvent également être utilisées pour obtenir une réponse par oui ou par non indiquant si un antigène particulier est présent dans un échantillon, par rapport à un puits vide, ne contenant aucun antigène ou un antigène de contrôle indépendant en observant le changement de couleur.
- **Données semi-quantitatives** : les données ELISA peuvent être utilisées pour comparer les niveaux relatifs d'antigènes dans les échantillons de dosage, car l'intensité du signal variera directement avec la concentration en antigènes (Booster antibody and ELISA experts, 2021).

Qualitativement, un changement de couleur est observé dans les micro-puits contenant l'antigène après l'ajout du substrat chromogène, la densité optique est mesurée par rapport aux contrôles positifs et négatifs, un résultat positif ou négatif est enregistré.

Quantitativement, la densité optique du contrôle négatif, du contrôle positif et de l'échantillon est mesurée à l'aide d'un lecteur de plaque, puisque le contrôle positif est de concentration connue, une courbe standard de concentration, en fonction de la densité optique est tracée après avoir soustrait l'absorbance obtenue du contrôle négatif de la densité optique de tous les échantillons. Puis une courbe de meilleur ajustement et de régression linéaire est tracée par des logiciels spécifiques ou par Excel pour obtenir une équation et pour calculer la concentration des antigènes par interpolation (CUSABIO, 2020).

I. Résultats d'ELISA pour la détection des antigènes

Pour obtenir les résultats dans notre exemple, on commence par le calcul de l'absorbance moyenne pour chaque série d'étalons en double et échantillons puis on trace la courbe standard avec la concentration sur l'axe des x et l'absorbance sur l'axe des y et enfin on calcule l'équation linéaire représentant la droite du meilleur ajustement (Genetex, 2021).

La figure 32 présente l'exemple d'un tableau de concentration des antigènes dans l'échantillon (picogrammes/ml) avec l'absorbance correspondante. Ce tableau est ensuite traduit en courbe

standard avec la concentration sur l'axe des x (SARS-CoV-2 N protéine concentration (pg/ml)) et l'absorbance sur l'axe des y (Absorbance à 450 nm).

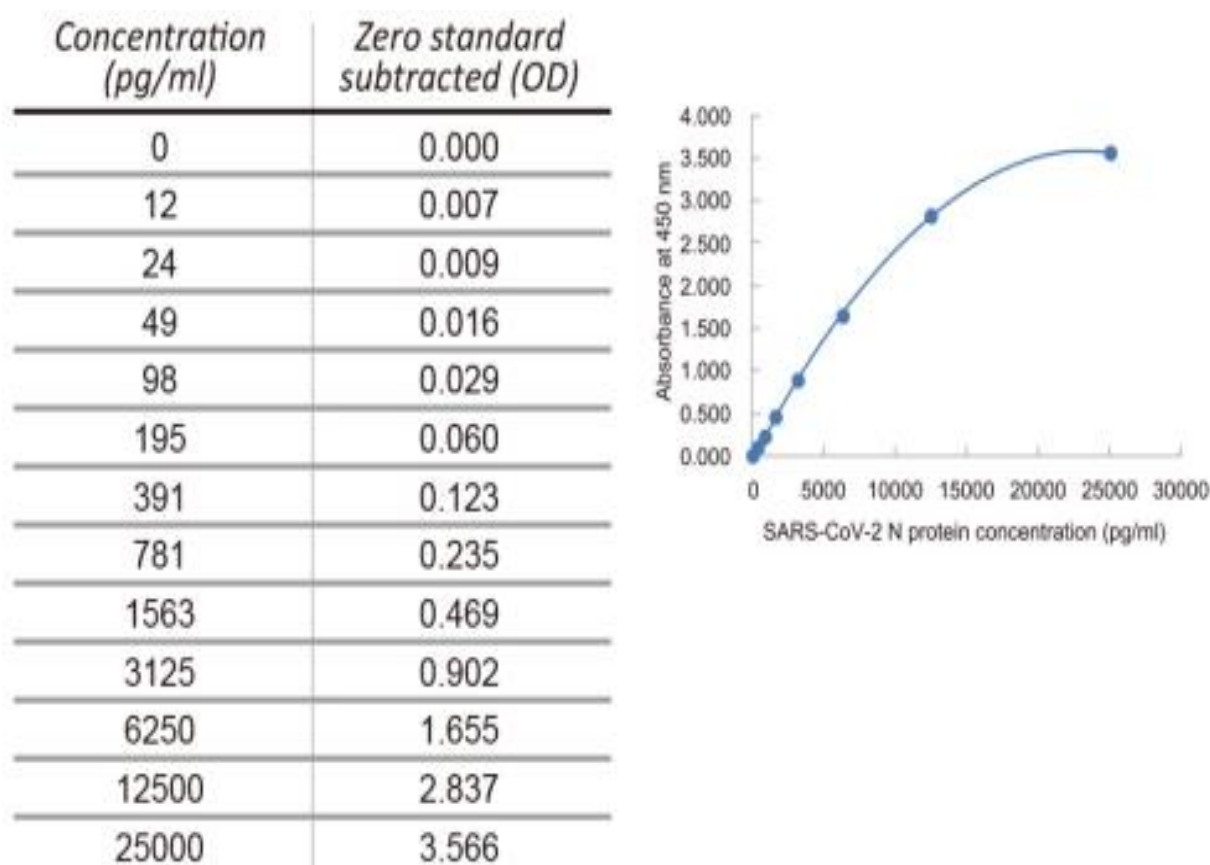


Figure 32: Résultats d'un test d'ELISA (Genetex, 2021).

La concentration peut être déterminée par l'équation de régression linéaire. Si la valeur d'absorbance est au-dessus de la plage linéaire, des dilutions de l'échantillons sont suggérées.

La concentration des antigènes peut alors être déduite en fonction des kits, contrôles négatif et positif et il y aura 3 résultats possibles : positif, invalide ou négatif. Le résultat positif indique la présence d'antigènes viraux, le résultat négatif indique son absence et résultat non valable indique que les résultats sont indéterminés.

II. Avantages du test d'ELISA

- Les kits d'ELISA détectent des antigènes en picogrammes de manière très spécifique en raison de l'utilisation d'anticorps ce qui offre une sensibilité et une spécificité élevées donc moins des risque d'avoir des faux positifs et des faux négatifs.

- Les kits ELISA commerciaux sont normalement disponibles dans un format de plaque à 96 puits, mais le dosage peut être facilement adapté aux plaques 384 puits, donc on peut analyser plusieurs échantillons en même temps en utilisant un seul kit : ce sont donc des kits à haut débit.
- Les protocoles des kits ELISA sont faciles à suivre et nécessitent peu de temps de manipulation.
- Le test est très spécifique à cause de l'utilisation des anticorps monoclonaux, qui sont spécifiques à un seul type d'épitope et très sensibles à l'utilisation d'anticorps secondaires.
- L'ELISA ne nécessite pas la présence d'appareillage spécialisé pour la détection du signal.
- Le test est réalisable à partir de différents types d'échantillons ; sérum, plasma, extraits cellulaires et tissulaires, urine et salive entre autres (Abcam, 2021).
- L'ELISA permet un dépistage quantitatif par détermination de la concentration d'antigènes dans un échantillon.

III. Inconvénients du test d'ELISA

- La détection des antigènes est basée sur des réactions enzyme/substrat ce qui rend la lecture temporaire donc elle doit être obtenue dans un laps de temps réduit (Abcam, 2021).
- Les étapes de procédure sont simples mais nécessitent une répétition multiple des lavages après chaque étape : la procédure ne peut donc pas être automatisée (Younes, 2020).
- L'application de la procédure nécessite des personnels qualifiés pour minimiser les erreurs de travail, ainsi que des laboratoires de niveau BSL-2 ou BSL-3 pour éviter la contamination par le virus qui est très contagieux et dangereux (Younes, 2020).
- La technique est dépendante de la température, du pH et de la lumière parce que elle est basée sur une réaction enzymatique (Magniez, 2008).

Les tests d'antigènes sont effectués pour rechercher des fragments de protéines qui composent le virus *SARS-CoV-2*, et déterminer si la personne a une infection active.

Un test d'antigènes positif signifie que la personne testée a eu une infection *SARS-CoV-2* active. Un test d'antigène négatif signifie que les protéines virales du *SARS-CoV-2* n'ont pas été détectées mais, un test négatif n'exclut pas que le sujet ait eu la COVID-19 parce que il peut y avoir des faux négatifs causés par ;

1. Une faible quantité des protéines présentes dans l'échantillon qui ne peuvent pas être détectées.
2. Par des erreurs de manipulation.
3. Par la sensibilité.
4. Par la spécificité des tests (PCHD, 2020).

3.2 Les techniques de dépistages sérologiques

3.2.1 Le test immunochromatographique à flux latéral (test rapide de détection des anticorps)

I. Résultats du test rapide de détection des anticorps

Comme la figure 33 indique :

-lorsque les trois bandes (la ligne de test IgG, la ligne de test IgM, la ligne de Contrôle) sont colorées, ou une des deux lignes du test Immunoglobuline (IgG ou IgM) et la ligne de Contrôle sont colorées, le résultat est positif ;

-lorsqu'il n'y a que la bande de Contrôle qui est colorée, le résultat est négatif :

-lorsque la bande de Contrôle est non colorée, le test est non valable même si les deux autres bandes d'immunoglobulines sont colorées (NG BIOTECH, 2020).

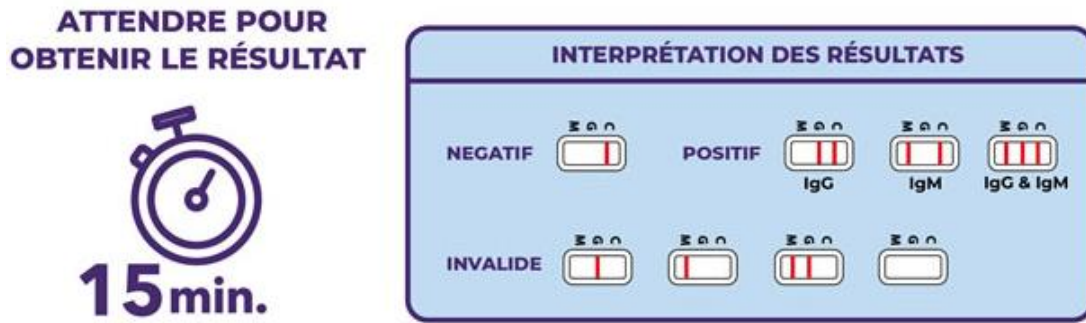


Figure 33: Résultats et interprétations d'un test des anticorps par un test immunochromatographique à flux latéral (NG BIOTECH, 2020).

II. Avantages du test rapide de détection des anticorps

- La réalisation des tests rapides de détection des anticorps est très simple et compatible avec plusieurs types d'échantillons (le sérum, le sang total, le plasma), et les résultats sont obtenus en 10 à 15 minutes sans équipements de lecture.
- La surveillance simultanée des IgM et des IgG rend la détection hautement efficace.
- Les cassettes de test sont stockées à une température ambiante.
- Les tests sérologiques aident les scientifiques à comprendre l'étendue de la propagation du coronavirus dans les populations.
- Les tests de détection rapide d'anticorps sont un outil épidémiologique efficace pour déterminer le pourcentage de la population qui a déjà été infectée même si certains n'ont jamais présenté de symptômes (Cliniscience, 2021).

III. Inconvénients du test rapide de détection des anticorps

- Les sujets immunodéprimés sont incapables de produire des IgM et des IgG même s'ils sont infectés par le virus ce qui donne des résultats faux négatifs en utilisant les tests de détection rapide d'anticorps.
- La détection des anticorps n'est pas toujours valable parce qu'elle est liée à leur cinétique d'apparition.
- Le test peut donner des faux positifs en raison de l'homologie des anticorps en particulier IgM avec celui de l'anti-SARS-CoV et les autres coronavirus humains.

- Les résultats finaux du test peuvent être affectés par l'interférence avec les autres composants de la matrice, tels que l'hémoglobine (MEGANA, 2020).

IV. Limites du test rapide de détection des anticorps

- Les tests de détection rapide des anticorps sont moins instructifs pour estimer les infections futures.
- Les résultats faux négatifs sont très probables avec ce test à cause de la chronologie d'apparition des IgG et des IgM.
- Plusieurs kits sont disponibles et chacun à une fiabilité et une sensibilité différente. Les tests de détection rapide des anticorps sont incapables de donner des résultats quantitatifs, ils sont limités à la détection qualitative des anticorps anti-SARS-CoV-2 dans le sérum, le plasma et le sang total.
- Les résultats négatifs nécessitent un test PCR pour la confirmation et la prise en charge clinique et ils ne doivent pas être utilisés comme seule base pour les décisions de prise en charge des patients parce que ces résultats n'excluent pas l'infection par le SARS-CoV-2 (MEGANA, 2020).

3.2.2 Letest d'ELISA

I. Lecture et interprétation du test d'ELISA pour la détection des anticorps

Il y a plusieurs façons de lire et d'interpréter les résultats de ce kit du test d'ELISA. La plus simple est basée sur le calcul du ratio selon la formule suivante :

$$\text{Ratio} = \frac{\text{DO échantillon}}{\text{DO calibreur}}$$

L'interprétation selon EUROIMMUN est la suivante :

Ratio < 0,8 : négatif = pas d'IgG

Ratio ≥ 0,8 à <1,1 : limite = quantité non détectable

Ratio ≥ 1.1 : positif = présence d'IgG (EUROIMMUN , 2020).

Pour les autres kits qui ciblent les IgM on applique la même méthode d'interprétation.

II. Avantages du test d'ELISA pour la détection des anticorps

- L'utilisation des anticorps monoclonaux donne une sensibilité très haute au test ELISA parce que ces anticorps monoclonaux sont spécifiques à un epitope d'une protéine particulière du virus.
- Le test ELISA peut être utilisé pour identifier les individus qui développent une réponse immunitaire adaptative au *SARS-CoV-2* pour dire que l'infection est récente ou antérieure.
- Les échantillons sanguins utilisés sont homogènes (c'est-à-dire répartition homogène des anticorps dans les échantillons).
- La procédure du test est très simple ainsi que le prélèvement et le stockage parce que les anticorps sont plus stables.
- Le prélèvement d'échantillon pour réaliser le test ELISA pour la détection d'anticorps ne cause pas l'inconfort du patient à dépister.
- Le test est rapide, facile et pas coûteux.
- Les anticorps sont détectables même après des semaines après l'apparition des symptômes parce que les anticorps peuvent rester dans le sang pour plusieurs jours contrairement aux antigènes et les acides nucléiques viraux (Younes, 2020).

III. Inconvénients du test d'ELISA pour la détection des anticorps

- Le test peut donner des faux négatifs parce que les anticorps ne peuvent pas être détectés pendant les premiers jours de l'infection, ils sont détectables 3 jours après d'apparition des symptômes.
- Le test ELISA pose un inconvénient dans le traçage et l'étude des personnes infectées et les statistiques peuvent être faussées parce que certaines personnes avec les symptômes légers ne développent pas d'anticorps (Younes, 2020).
- Les anticorps dirigés contre les coronavirus humains présentent une certaine homologie ce qui peut conduire à des réactions croisées qui donne des résultats faux-positifs.
- Les résultats finaux peuvent être affectés par interférence avec d'autres composants de la matrice, tels que l'hémoglobine, les triglycérides et la bilirubine. L'hémoglobine peut interagir avec d'autres protéines et possède une activité catalytique de type peroxydase ce qui suggère la possibilité que cette molécule puisse imiter l'action de la peroxydase

de raifort dans les systèmes ELISA à base de peroxydase et produire des résultats faussement positifs.

IV. Limites du test d'ELISA pour la détection des anticorps

- Le test ELISA ne doit pas être utilisé comme seule base pour prendre des décisions de prise en charge des patients parce que les résultats négatifs n'excluent pas l'infection par le *SARS-CoV-2*.
- Des résultats faux positifs sont possibles surtout pour les IgG en raison d'une réactivité croisée avec des anticorps préexistants des autres coronavirus qui infectent l'homme.
- Les résultats positifs doivent être confirmés par un test alternatif pour la confirmation du diagnostic.
- Un résultat négatif peut apparaître si la quantité d'anticorps dirigés contre le virus *SARS-CoV-2* dans l'échantillon est en dessous de la limite de détection du test, ou si le virus a subi une ou des mutations mineures dans la région de l'acide ribonucléique (ARN viral) qui code pour l'épitope reconnu par l'anticorps utilisé dans le test.
- Le système de test est validé pour la détermination qualitative des IgG, des IgM ou les IgA anti-*SARS-CoV-2* dans le sérum humain ou plasma uniquement.
- Il faut bien contrôler la température dans toutes les étapes du processus parce que l'activité de liaison des anticorps et l'activité de l'enzyme sont sensibles à la température sinon on risque d'avoir de faux résultats.
- Un lavage insuffisant de microplaque donne de fausses lectures.

3.2.3 Le test de neutralisation

I. Résultats et interprétation du test de neutralisation

Les anticorps neutralisants empêche l'interaction de domaine de liaison du récepteur (RBD) du virus *SARS-CoV-2* avec l'enzyme de conversion de l'angiotensine-2 (ACE-2) de la cellule hôte en se liant avec l'ACE-2 et empêchent l'émission de signal à la fin. Ce signal est observable à une longueur d'onde donnée selon le kit utilisé pour un lecteur de plaque.

Le peroxyde de raifort recombiné au domaine de liaison du récepteur (HRP-RBD) non lié est éliminé par lavage et l'interaction de domaine de liaison au récepteur (RBD) du virus *SARS-CoV-2* avec l'enzyme de conversion de l'angiotensine-2 (RBD-ACE2 lié) est détecté par colorimétrie. Les anticorps neutralisants circulants contre le *SARS-CoV-2* inhibent de manière

compétitive l'interaction RBD-ACE2. Le pourcentage d'inhibition est calculé en mesurant la différence de RBD marqué entre les échantillons de test et les échantillons de contrôle (Putchaoen, 2021).

Après lecture de la densité optique, on calcule le seuil d'inhibition du signal (PIS) de 30% pour l'interprétation du taux d'inhibition du signal selon la formule suivante (Genscript, 2020).

$$PIS = \left(1 - \frac{DO \text{ échantillon}}{DO \text{ controle négatif}} \right) \times 100$$

L'opérateur peut déterminer le résultat de l'échantillon en comparant ce pourcentage au tableau suivant :

Tableau 3 : Résultats d'un test de neutralisation

Valeur des résultats	Résultats	Interprétation
$\geq 30\%$	Positif	des anticorps neutralisants contre <i>SARS-CoV-2</i> sont détectés
$< 30\%$	Négatif	les anticorps neutralisants contre <i>SARS-CoV-2</i> ne sont pas détectés

II. Avantages du test de neutralisation

- Le test de neutralisation offre une grande sensibilité et une fiabilité élevée.
- Le test de neutralisation donne une information sur les anticorps contenus dans le sang du patient pour savoir s'ils sont capables de neutraliser le virus ou pas.
- Le test de neutralisation peut aider au développement et à l'efficacité des vaccins. Les tests peuvent identifier les parties du virus auxquelles le système immunitaire réagit et doivent être ciblés pendant le développement du vaccin (Egbuna, 2021).

III. Limites du test de neutralisation

- Le test de neutralisation ne donne pas des résultats qualitatifs, il indique seulement la quantité d'anticorps neutralisants présents dans l'échantillon.
- C'est un test très dangereux parce que certaines de ces tests utilisent les virus vivant qui peuvent être une source de contamination. C'est pour cela qu'il est utilisé uniquement dans les conditions de l'autorisation d'utilisation d'urgence de la FDA.

- Les résultats négatifs d'un test de neutralisation n'excluent pas l'infection par le SARS-COV-2, surtout chez les personnes qui ont été en contact avec le virus c'est pour quoi il faut évaluer l'infection aiguë par le SARS-CoV-2 chez les individus symptomatiques par un autre dépistage direct.
- Les résultats positifs peuvent être dus à une infection actuelle ou passée par un coronavirus non-SARS-COV-2, tels que *HKU1*, *NL63*, *OC43* ou *229E*.
- Les résultats positifs sont insuffisants pour indiquer une infection antérieure par le SARS-CoV-2. Il faut prendre en considération d'autres informations, comme les antécédents cliniques et la prévalence locale de la maladie pour évaluer le besoin d'un autre type de tests sérologiques pour confirmer la réponse immunitaire.
- Le kit de détection d'anticorps de neutralisation cPass SARS-CoV-2 est connu pour ses réactions croisées avec des anticorps neutralisants SARS-CoV-1 (Genscript, 2020)

3.2.4 Interprétation et résultats possibles de l'analyse sérologiques du SARS-CoV-2.

Après une analyse sérologique 4 résultats sont possibles (Atlantic clinic, 2020).

a- IgM négatifs, IgG négatifs

- Il n'y a pas évidence d'une infection actuelle ou antérieure.
- Il faut se rappeler qu'un minimum de 4 jours depuis le début des symptômes ou de 7 jours après l'exposition au virus est nécessaire pour qu'apparaissent les anticorps comme positifs. Ceci signifie que le test des anticorps ne peut pas détecter une infection dans la phase initiale de la contagion.
- Si un doute d'infection récente existe, en dépit de ce résultat, un test de PCR peut être réalisé. Une autre option étant de refaire un test d'anticorps quelques jours plus tard.

b- IgM positifs, IgG négatifs

Ce résultat suggère une infection dans la phase initiale de la maladie.

Si le résultat ne coïncide pas avec la réalité clinique du patient (par exemple s'il n'y a pas de symptômes) il se pourrait que ce soit un faux positif. Le résultat peut être confirmé par un test de PCR ou, s'il s'agit d'un test rapide d'anticorps, par un test ELISA, qui est plus fiable et spécifique.

c- IgM positifs, IgG positifs

Ce résultat suggère une infection dans la phase intermédiaire de la maladie. Il est probable que la possibilité d'infecter d'autres personnes soit basse.

d- IgM négatifs, IgG positifs

- Il a une guérison de la maladie et le patient n'est plus contagieux.
- Un certain niveau d'immunité contre le coronavirus SARS-COV-2 est possible, bien qu'il n'est pas possible d'affirmer dans quelle mesure ni pour combien de temps. Il est donc recommandé de continuer à être prudent.

3.3 Le dépistage par les techniques moléculaires**3.3.1 Le dépistage par la PCR numérique en gouttelettes (ddPCR)****I. Résultats et interprétation**

- Lorsque les gouttelettes présentent une intensité de fluorescence élevée, le résultat est positif : c'est-à-dire les gouttelettes cibles contiennent l'ARN viral du SARS-CoV-2, figure (34, c)
- Lorsque les gouttelettes présentent une intensité de fluorescence faible, le résultat est négatif c'est-à-dire qu'elles ne contiennent pas l'ARN viral du SARS-CoV-2, figure (34, c).

Pour interpréter les résultats quantitativement, l'intensité de fluorescence est tracée sur un graphique en fonction du temps (figure 34, d). Le nombre de cibles partition suivra l'encapsulation de distribution normale de Poisson de l'ARN viral qui se produit de manière aléatoire (figure 34, a-b).

Diverses méthodes permettent d'interpréter l'intensité de fluorescence des gouttelettes. La plus populaire d'entre elles utilise un microscope à fluorescence ou un lecteur de gouttelettes. Les données acquises sont visualisées dans un graphique par différents logiciels (figure 34, d).

La valeur seuil indique l'intensité de la fluorescence lorsque les particules positives sont séparées des négatives. Bien que cette valeur soit définie automatiquement par le logiciel, elle peut être ajustée manuellement (Kojabad A. a., 2021).

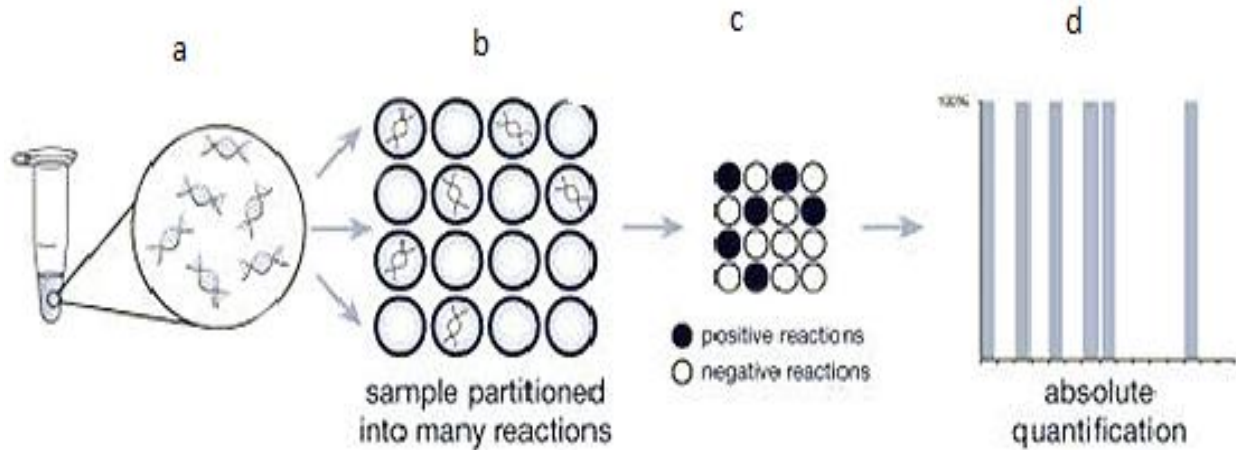


Figure 34: Résultats de la ddPCR, voir le texte pour plus de détails (ThermoFisher, 2021).

On prépare un super mix qui contient l'ARN viral provenant de l'échantillon et les différents réactifs nécessaires pour l'amplification PCR (figure 34, a), par un générateur de gouttelettes. On répartit l'ARN viral aléatoirement dans de nombreuses réactions PCR individuelles (figure 34, b). Puis on passe au lecteur de l'intensité : plus l'intensité est forte plus la quantité d'ARN viral est importante, par contre l'intensité faible ou absente traduit une quantité très faible ou absence d'ARN viral (figure 34, c). Cette intensité est représentée par un graphique en utilisant un appareillage et un logiciel spécifiques pour quantifier les copies de l'ARN viral avant et après l'amplification (figure 34, d) (ThermoFisher, 2021).

II. Avantages du dépistage par la PCR numérique en gouttelettes (ddPCR)

- La PCR numérique en gouttelettes donne l'opportunité d'analyser des mélanges complexes.
- Elle est considérée comme un test qui se déroule parfaitement car il est très tolérant aux inhibiteurs en raison de la répartition des inhibiteurs contenus dans le mélange réactionnel en gouttelettes minimisant ainsi leurs effets.
- La dd-PCR est un test à précision accrue grâce à un partitionnement massif des échantillons, qui garantit des mesures fiables dans la séquence d'acide nucléiques souhaitée en raison de la reproductibilité.

- En comparant avec la PCR classique, les taux d'erreur sont plus faibles avec la dd-PCR en raison des différences de changement plus petites qui peuvent être détectées dans la séquence d'acide nucléiques
- La dd-PCR utilise des volumes plus réduits de réactifs nécessaire et réduit donc le coût de l'expérience.
- La dd-PCR est hautement quantitative car elle ne repose pas sur la fluorescence relative de la solution pour déterminer la quantité d'ADN cible amplifié.
- La dd-PCR n'exige pas de références ou des normes (ThermoFisher, 2021).

III. Inconvénients du dépistage par la PCR numérique en gouttelettes (ddPCR)

- A cause de ses différentes étapes et de l'équipement utilisé, le test PCR nécessite un personnel très qualifié et des laboratoires bien équipés, ce qui rend le test couteux.

3.3.2 Dépistage par la PCR en temps réel

I. Résultats et interprétation du dépistage par la PCR en temps réel

L'augmentation de l'ADNc viral peut être suivie en temps réel en suivant l'augmentation du signal fluorescent. Lorsque le niveau de fluorescence dépasse un certain seuil, nous pouvons être sûrs que le signal est nettement supérieur au bruit de fond (Wiesbauer, 2021). La ligne de seuil est le niveau de détection où une réaction atteint une intensité fluorescente supérieure au bruit de fond. Le cycle de PCR pour lequel l'échantillon atteint ce niveau est appelé Cycle Seuil(Ct). La valeur Ct est utilisée dans la quantification ou la détection de l'ARN. Elle apparaîtra toujours au cours de la phase exponentielle d'amplification comme c'est illustré dans la figure 35. En comparant les valeurs Ct d'échantillons de concentration inconnue avec une série d'étalons, la quantité d'ADNc dans une réaction inconnue peut être déterminée avec précision (ThermoFisher, 2021).

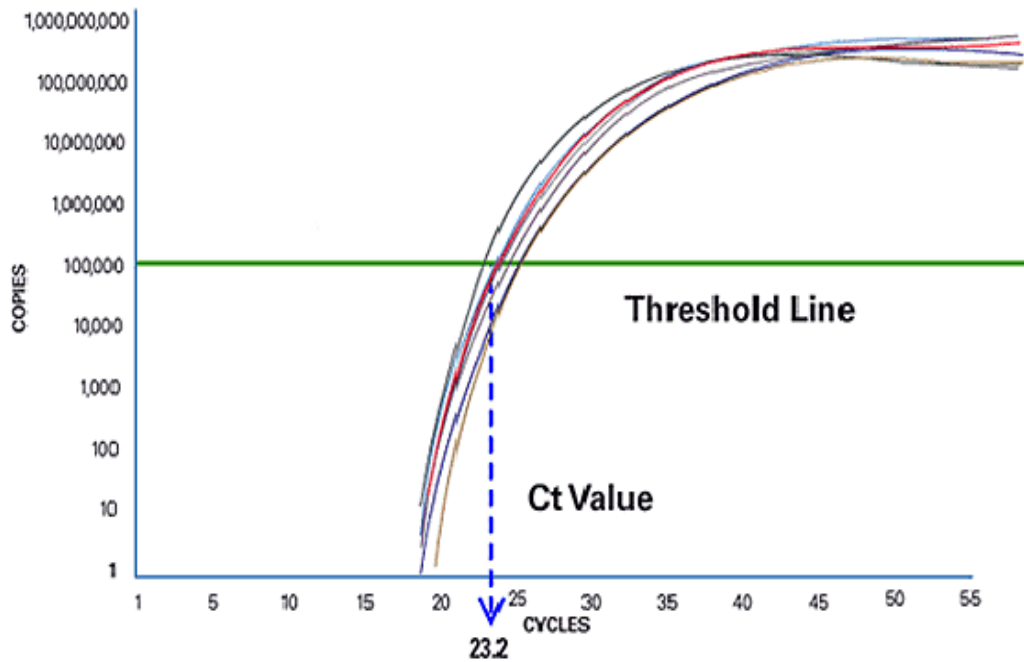


Figure 35: Courbe montrant le cycle de PCR durant lequel l'échantillon atteint une intensité fluorescente au-dessus du fond (cycle seuil ou Ct) (ThermoFisher, 2021).

Le concept du « cycle seuil » est à la base d'une quantification précise et reproductible pour les techniques fluorescentes en PCR. Les valeurs de fluorescence sont enregistrées au cours de chaque cycle et représentent la quantité d'amplicons produits en un point précis dans la réaction. Plus il y a de matrices à amplifier au départ de la réaction PCR, moins élevé sera le nombre de cycle requis pour atteindre un point où le signal d'émission de fluorescence sera statistiquement et significativement plus élevé que le bruit de fond. La valeur du Ct peut être traduite par un résultat quantitatif en le comparant avec les valeurs du Ct générées avec des matrices de quantification connues (Elyse, 2002).

Les résultats peuvent être positifs ou négatifs selon la figure suivante :

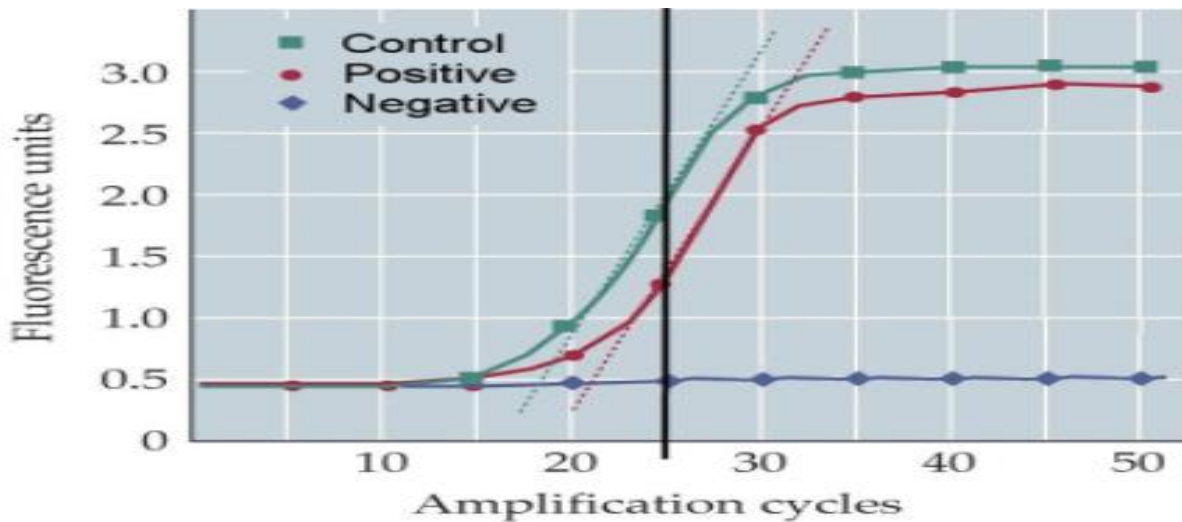


Figure 36: Résultats du dépistage par la RT-PCR (Carr, 2005).

II. Avantages du dépistage par la PCR en temps réel

- Pendant le processus de la PCR en temps réel une augmentation du signal fluorescent reporté est directement proportionnelle au nombre d'amplicons générés, l'amplification est suivie en temps réel.
- La RT-PCR, est considérée comme le test standard pour le diagnostic du virus SARS-CoV-2. Ce test est également utilisé comme un test de confirmation après les tests antigéniques, car il est très précis avec une sensibilité et une spécificité supérieures à 95%.
- La recherche démontre que la RT-PCR est moins susceptible de produire de faux négatifs par rapport à d'autres techniques d'analyse.
- Le test RT-PCR est également utile pour déterminer si un individu a une infection COVID-19 active (Egbuna, 2021).

III. Inconvénients du dépistage par la PCR en temps réel

- La précision des résultats de la RT-PCR dépend fortement du moment de prélèvement, du type d'échantillon, des conditions de stockage, de la manipulation et du traitement des échantillons. Un résultat faussement négatif est possible si l'échantillon n'est pas correctement obtenu ou si un individu est testé trop tôt après l'exposition au virus ou trop tard dans son infection.
- Les tests diagnostiquent uniquement une infection active ; ils ne peuvent pas détecter si un individu a déjà été infecté.

- Dans les derniers stades de la maladie c'est-à-dire 7 jours après l'exposition, les échantillons des voies respiratoires inférieures (expectorations, sécrétions trachéales, lavage broncho-alvéolaire) peuvent donner des taux de détection plus élevés mais sont plus invasifs pour le patient. La technique de l'écouvillonnage nasopharyngique profond s'est avérée très inconfortable pour certains adultes et petits enfants.
- Les tests de diagnostic moléculaire sont compliqués et coûteux à réaliser et prennent du temps avant l'obtention des résultats. Ils nécessitent du personnel de laboratoire compétent en matière d'utilisation d'équipements et des réactifs de laboratoire spéciaux. En attendant les résultats de la RT-PCR qui durent assez longtemps, les personnes infectées par la COVID-19 peuvent transmettre le virus à d'autres sans le savoir (Egbuna, 2021)

3.4 La validité des tests

Durant la pandémie actuelle causée par le coronavirus *SARS-CoV-2*, plusieurs kits de tests de dépistage sont disponibles et nouvellement introduits sur le marché et ont tous une validité différente. Un test avec une validité élevée, est un test qui est capable de classer correctement un grand nombre de personnes malades et non malades. La validité du test est directement liée aux paramètres que sont la sensibilité et la spécificité. Le test qui est plus probable de donner des faux négatifs et des faux positifs est un test de validité très basse (Wiesbauer, 2021).

La sensibilité est la proportion d'individus malades correctement classés. La sensibilité peut être calculée par le nombre de malades correctement classés divisé par tous les individus malades multipliés par 100.

$$\textit{sensibilité} = \frac{\textit{vrais positifs}}{\textit{nombre total de malades}} \times 100$$

La spécificité est la proportion de personnes non malades correctement classés. La spécificité est calculée par le nombre d'individus non malades correctement classés divisé par l'ensemble des individus non malades multipliés par 100.

$$\textit{spécificité} = \frac{\textit{vrais négatifs}}{\textit{nombre total des cas négatifs}} \times 100$$

Ces 2 paramètres affectent la précision des tests, où des faux négatifs et des faux positifs peuvent être observés et ceci est provoqué par un certain nombre de facteurs qui incluent :

- La réactivité croisée avec les autres coronavirus humains. On parle de la réactivité croisée lorsqu'un anticorps est capable de se combiner avec les antigènes différents mais dont les déterminants antigéniques sont très proches (Thièbaux, 2021). Ceci est dû à l'homologie des différents acides aminés des protéines du *SARS-CoV-2* avec les autres coronavirus humains, conduisant à des faux positifs dus à la liaison de ces anticorps contre les autres coronavirus humains aux épitopes des antigènes *SARS-CoV-2* ou à la liaison des anticorps contre le *SARS-CoV-2* aux épitopes des antigènes d'autres coronavirus humains, en particulier le *SARS-CoV* (Li, 2021).
- L'obtention de faux positifs et de faux négatifs est aussi fortement liée à la cinétique de l'infection et de la séroconversion illustrées dans la figure 37. Il est préférable de réaliser un test sérologique environ 14 jours après le début des symptômes. Lorsque la personne est guérie, la recherche du virus par PCR ou par test antigénique est négative. Le seul test qui reste positif est la sérologie, c'est une sorte de « cicatrice » de l'infection au *SARS-CoV-2*. Le test antigénique permet d'affirmer la présence du virus lorsque l'examen est positif mais, il est inutile chez les personnes sans symptômes à cause de la charge virale faible. Enfin la PCR est le test avec une validité très élevée par comparaison avec les tests sérologique et immunologiques parce que même les charges faible d'ARN viral sont détectables par la PCR numérique en gouttelettes (Hantz, 2020)

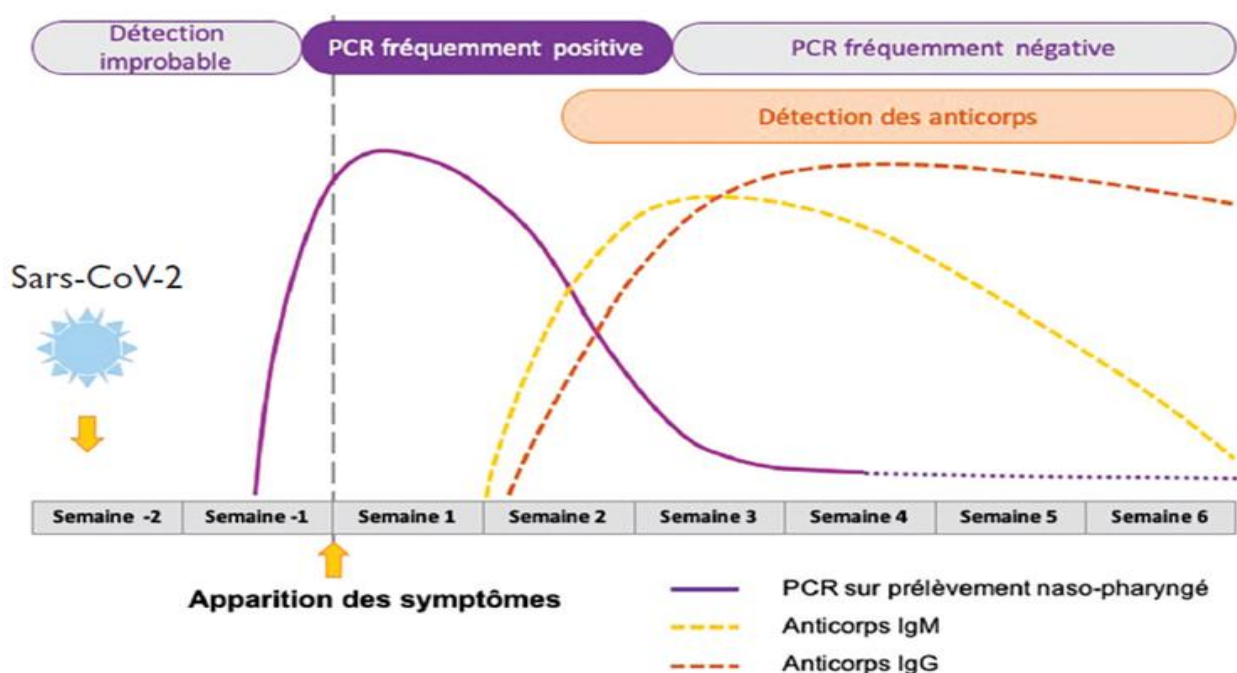


Figure 37: Cinétique des marqueurs diagnostiques en fonction du stade de l'infection (Hantz, 2020).

- Les tests moléculaires sont réalisable à partir d'échantillons différents tels que des écouvillonnages nasopharyngés, des échantillons de sang, d'expectorations, d'excréments, d'urine, d'échantillons nasaux, du liquide de lavage broncho-alvéolaire et de la biopsie à la brosse du fibrobronchoscope. Ces types d'échantillons prélevés ont une influence sur la sensibilité. Wenjie Tan et al (2020) ils ont observé que le taux de positivité était comme suit : les échantillons de liquide de lavage broncho-alvéolaire ont montré les taux de positivité les plus élevés, suivis par les expectorations, les écouvillonnages nasaux, la biopsie au fibrobronchoscope au pinceau, les écouvillonnages pharyngés, les fèces et le sang. Aucun des échantillons d'urine n'a été testé positif (Tan, 2020).
- La limite de détection (LOD) de la RT-PCR indique la quantité minimale d'ARN que le test détectera 95 fois sur 100. Si la LOD pour un test est trop élevée, les patients qui sont infectés par le *SARS-CoV-2* peuvent présenter des résultats négatifs lorsque la charge virale dans leur échantillon est faible, ce qui entraîne un taux élevé de faux négatifs. Si la LOD pour un test est trop faible : la contamination peut devenir un problème majeur, car le test détectera les plus petites quantités d'ARN viral (Prinzi, 2020) ; dans le cas où la synthèse des longus oligonucléotides contenant des séquences de *SARS-CoV-2* utilisées comme les contrôles positifs peuvent contaminer les réactifs (Bezier, 2020). Ceci conduit à des résultats de test faussement positifs, c'est-à-dire des personnes qui ne sont pas infectées par le *SARS-CoV-2* seront testées positives au lieu d'être négatives (Prinzi, 2020).
- De nombreux risques et erreurs sont rencontrés depuis le prélèvement de l'échantillon jusqu'à l'annonce des résultats. Ces risques et erreurs qui peuvent conduire à de faux résultats sont regroupés en cinq classes (tableau 4) :
 - Facteurs liés aux matériaux et aux échantillons,
 - Facteurs liés aux manipulateurs,
 - Facteurs liés à la procédure et à la manipulation,
 - Facteurs liés à l'équipement
 - Facteurs liés à l'environnement

Tableau 4 : Résumé des facteurs qui influencent la validité d'un test (Bezier, 2020)

Facteurs liés à	Exemples
L'échantillon	<ul style="list-style-type: none"> • Une charge virale faible • Un mauvais prélèvement
La procédure et la manipulation	<ul style="list-style-type: none"> • Mauvaise organisation conduisant à une contamination de l'échantillon ; L'échantillon peut être contaminé par les surfaces mal désinfectées, les gants et les équipements de protection des techniciens de laboratoire et les réactifs utilisés. • Mauvais transport de l'échantillon par lequel l'ARN qui est une molécule très instable peut facilement se détériorer.
Le manipulateur	<ul style="list-style-type: none"> • Manque d'attention.
L'environnement	<ul style="list-style-type: none"> • Si l'environnement dans lequel la procédure est faite est contaminé par le SARS-CoV-2, les échantillons peuvent être contaminés.
L'équipement	<ul style="list-style-type: none"> • Manque ou contamination de matériels.

3.5 Discussion

La technique d'ELISA est considérée comme la technique de sensibilité la plus haute, pour la détection des anticorps, et aussi des antigènes. Mais elle nécessite un déplacement du patient, ce qui est déconseillé durant cette pandémie, surtout chez les cas positifs, les cas immunodéprimés ou les personnes âgées. C'est pour cela qu'elle est remplacée par des tests sérologiques ou antigéniques rapides basés sur l'immunochromatographie à flux latéral. Ils donnent des résultats dans des délais très réduits, ils sont réalisables au niveau des pharmacies ou même à la maison, donc ils minimisent la propagation du virus et améliorent la prévention. Mais il faut bien choisir les kits pour éviter les fraudes (Gala, 2020).

Les tests sérologiques rapides, donnent l'opportunité de détecter les IgG et les IgM se trouvant dans le sang sur le même kit ce qui est impossible les kits d'ELISA.

Un autre test pour la détection des anticorps est disponible, il s'agit du test de neutralisation. Malgré sa fiabilité, il pose des risques très élevés pour les manipulateurs, ainsi il nécessite des laboratoires spécialisés donc il est rarement utilisé. Par contre les tests antigéniques rapides sont un outil de dépistage direct de virus dans les voies respiratoires supérieures en cherchant certaines protéines virales (Egbuna, 2021).

Malgré leur utilité, les tests sérologiques et immunologiques ne donnent pas toujours des bons résultats. D'une part, les tests antigéniques donnent des résultats positifs pour les personnes contagieuses, c'est-à-dire à partir d'un prélèvement des voies respiratoires supérieures dans une période où la charge virale est maximale. Il y a un risque de faux négatifs chez les personnes asymptomatiques avec une charge virale faible. D'autre part, les tests sérologiques sont liés à la cinétique de la séroconversion, donc des faux négatifs sont probables chez les cas immunodéprimés ou personnes âgées parce que leurs corps n'ont pas développé une immunité contre l'infection. C'est pour cela qu'il faut toujours prendre en considération la phase de la maladie, le type de prélèvement et l'état du patient. Les faux-positifs sont aussi un problème lorsqu'on parle de la spécificité et la sensibilité variables des kits de tests. Donc, il faudra tenir compte du choix des kits diagnostiques et de leur fiabilité, tout autant que les conditions dans lesquelles les dosages ont été effectués (Egbuna, 2021).

les méthodes de dépistage immunologique ou sérologique seules, ne sont pas suffisantes pour le diagnostic et la prise en charge de patient. Ils nécessitent toujours une confirmation par un test moléculaire qui est la PCR, et qui permet d'affirmer au moment du prélèvement si le patient est un porteur ou non du *SARS-CoV-2* et constitue l'examen clé pour le diagnostic de l'infection COVID-19. Dans ce test le cas des faux positifs est rare. Mais il existe des situations où le test PCR peut être négatif alors que la personne est porteuse. C'est le cas en particulier chez les patients symptomatiques, mais qui font leur test PCR trop tardivement, plus d'une semaine après le début des signes. Deux types de kits PCR pour le dépistage de *SARS-CoV-2* sont disponibles : RT-PCR en temps réel et la ddPCR (Kojabad, 2021).

La PCR la plus utilisée pour le dépistage de *SARS-CoV-2* est la RT-PCR, parce qu'elle est rapide, moins coûteuse et facile à réaliser par rapport à la PCR numérique en gouttelettes qui donne des résultats quantitatifs plus exacts, mais elle nécessite un équipement et des logiciels très coûteux ainsi qu'un personnel très qualifié, c'est pour ça qu'elle est plus utilisée dans le domaine de la recherche scientifique et non dans le diagnostic médical (Gala, 2020).

Conclusion et perspectives

Les différents kits de diagnostic pour le dépistage du *SARS-CoV-2* ont des principes, une sensibilité et une spécificité différents. Leurs différents principes sont basés sur leurs méthodologies, leurs constructions ainsi que l'échantillon à tester. De nombreux aspects doivent être pris en considération lors du choix de la technique à utiliser afin de prévenir la transmission élevée du *SARS-CoV-2* et de la prise en charge des patients. Le dépistage du *SARS-CoV-2* peut être effectué soit dans un laboratoire, soit sur le lieu de soins au voisinage du patient. Les kits de tests à flux latéral antigénique ou sérologique peuvent être utilisés près du patient sans aller au laboratoire. Ces tests donnent des résultats plus rapides que la RT-PCR.

Les techniques de dépistage comme L'ELISA, la RT-PCR, la dd-PCR, et le test de neutralisation nécessitent un laboratoire bien équipé ainsi que le personnel qualifié, ce qui peut prendre beaucoup du temps et nécessite un déplacement du patient ou le transport d'échantillons, ce qui est déconseillé dans les cas où des décisions d'intervention rapides seraient nécessaires.

Les tests sérologiques ne sont pas utilisés dans le diagnostic direct de COVID-19, ils indiquent seulement la présence d'une réponse immunitaire adaptative contre le *SARS-CoV-2*. Parmi les tests sérologiques, seule le test de neutralisation permet de tester la capacité d'anticorps inhibant le virus. Par contre, les tests moléculaires et immunologiques sont utilisés pour le dépistage direct de virus.

La période de prélèvement d'échantillon affecte fortement les résultats d'un test ; parce que chaque molécule à tester : ARN, antigène ou anticorps a une période durant laquelle la molécule est plus détectable. Par contre, il y a des périodes où les molécules disparaissent ou ils sont à une quantité faible non détectable. Cela est influencé par plusieurs facteurs comme l'état du système immunitaire et l'âge de patient, ce qui donne des faux-négatifs. Par conséquent, les techniques à utiliser pour le dépistage du COVID-19 doivent être choisies en tenant compte de nombreux facteurs pour réduire la transmission qui pourrait être causée par des résultats erronés, un temps limité et l'accessibilité. Autre facteurs peuvent affecter les résultats comme le prélèvement et le transport d'échantillons, ainsi que les capacités du manipulateur et la contamination ; par conséquent, un control appropriée tout au long du processus doit être suivi.

Comme perspective, il faut penser à l'importance de réaliser le dépistage même si on n'est pas symptomatique pour faire face à cette pandémie mondiale et pour combattre ce virus et d'autres

micro-organismes qui peuvent provoquer une épidémie sans attendre que les cas augmentent. Nous espérons que la science trouvera un traitement définitif et que la vaccination actuelle prouvera son efficacité.

Annexes

ANNEXE 1 : Kit D'ELISA en Sandwich pour la détection de la protéine N du SARS-CoV-2 (Genetex, 2021).

[https://www.genetex.com/upload/website/product_protocol/SARS-CoV-2%20\(COVID-19\)%20Nucleocapsid%20Protein%20Sandwich%20ELISA%20Kit_GTX535824_3.pdf](https://www.genetex.com/upload/website/product_protocol/SARS-CoV-2%20(COVID-19)%20Nucleocapsid%20Protein%20Sandwich%20ELISA%20Kit_GTX535824_3.pdf)

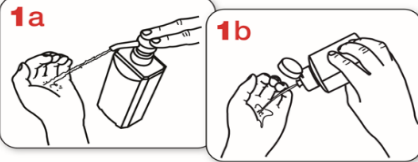
ANNEXE 2 : Kit pour le test de neutralisation Covid-19 (Genscript, 2020).

<https://www.fda.gov/media/143583/download>

ANNEXE 3: lavage des mains (OMS, Friction lavage, 2006)

Friction hydro-alcoolique – Comment ?

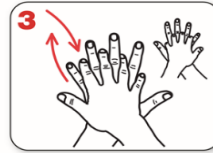
AVEC UN PRODUIT HYDRO-ALCOOLIQUE



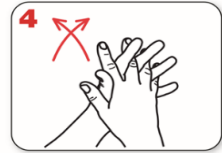
Remplir la paume d'une main avec le produit hydro-alcoolique, recouvrir toutes les surfaces des mains et frictionner :



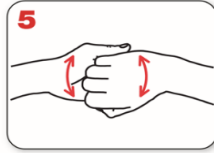
2
Paume contre paume par mouvement de rotation,



3
le dos de la main gauche avec un mouvement d'avant en arrière exercé par la paume droite, et vice et versa,



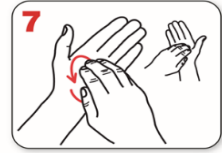
4
les espaces interdigitaux paume contre paume, doigts entrelacés, en exerçant un mouvement d'avant en arrière,



5
les dos des doigts en les tenant dans la paume des mains, opposées avec un mouvement d'aller-retour latéral,



6
le pouce de la main gauche par rotation dans la paume refermée de la main droite, et vice et versa,



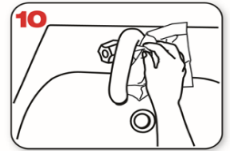
7
la pulpe des doigts de la main droite par rotation contre la paume de la main gauche, et vice et versa.



8
Rincer les mains à l'eau,



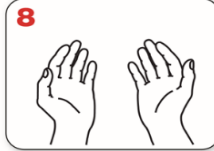
9
sécher soigneusement les mains avec une serviette à usage unique,



10
fermer le robinet à l'aide de la serviette.



20-30 secondes



8
Une fois sèches, les mains sont prêtes pour le soin.



40-60 secondes



11
Les mains sont prêtes pour le soin.

ANNEXE 4 : Prevention

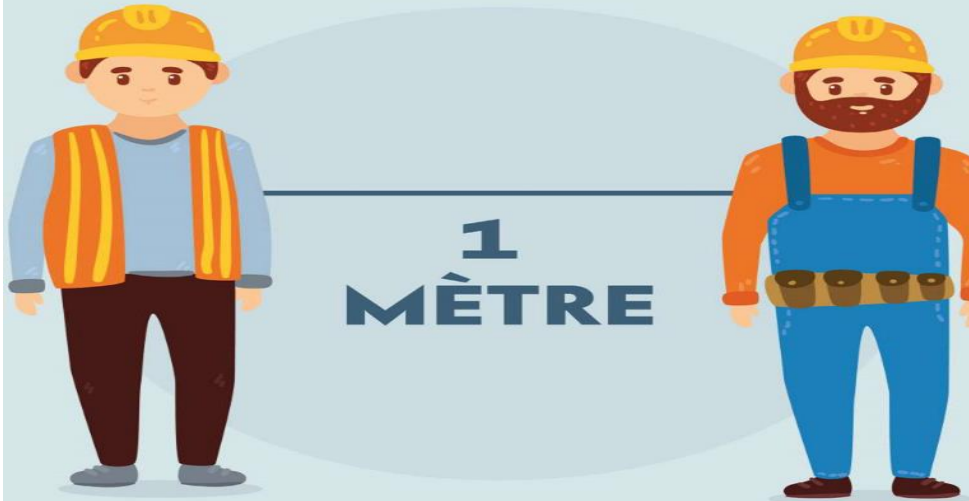
UTILISEZ D'AUTRES MANIÈRES POUR VOUS SALUER

ÉVITEZ DE VOUS SERRER LA MAIN, DE FAIRE DES ACCOLADES ET D'AVOIR DES CONTACTS DIRECTS. NE VOUS TOUCHEZ PAS LE VISAGE



COUVREZ-VOUS LA BOUCHE AVEC L'AVANT-BRAS QUAND VOUS TOUSSEZ OU ÉTERNUEZ, OU BIEN TOUSSEZ ET ÉTERNUEZ DANS UN MOUCHOIR JETABLE QUE VOUS JETEZ À LA POUBELLE ET ENSUITE LAVEZ-VOUS LES MAINS.

DISTANCE MINIMUM SUR LE CHANTIER



Évitez tout contact rapproché sans protection. Ne vous touchez pas le visage et lavez-vous constamment les mains. Assurez-vous de suivre les restrictions émises par les autorités locales concernant les déplacements.



Évitez de partager verres, assiettes et autres articles à usage personnel. Nettoyez et désinfectez les objets et les surfaces qui vous touchent fréquemment.



Si vous avez voyagé dans des régions où le virus circule ou si vous avez été en contact proche avec une personne malade et que vous avez de la fièvre, que vous toussiez ou que vous avez des difficultés à respirer, recherchez immédiatement une assistance médicale. Ne prenez aucun médicament sans consulter.

ANNEXE 5 : Comment porter un masque médical en toute sécurité

COMMENT PORTER UN MASQUE MÉDICAL EN TOUTE SÉCURITÉ

Choses à faire →



- Lavez-vous les mains avant de toucher votre masque
- Inspectez votre masque pour vous assurer qu'il n'est pas déchiré ou troué
- Trouvez la face supérieure de votre masque, où se trouve la banderille nasale ou le bord rigide
- Veillez à ce que la face colorée de votre masque soit tournée vers l'extérieur
- Placez la banderille nasale ou le bord rigide du masque sur votre nez
- Couvrez votre bouche, votre nez et votre menton
- Ajustez votre masque de façon à ce qu'il recouvre bien votre visage sans laisser d'espace sur les côtés
- Évitez de toucher le masque une fois que vous l'avez porté
- Retirez votre masque en frottant par derrière (en retirant les élastiques ou les lanières derrière les oreilles ou derrière la tête)
- Tenez le masque éloigné de vous et des surfaces pendant que vous le retirez
- Jetez le masque immédiatement après usage, de préférence dans une poubelle fermée
- Lavez-vous les mains après avoir jeté le masque

N'oubliez pas que les masques seuls ne peuvent pas vous protéger contre la COVID-19. Maintenez une distance d'au moins un mètre avec les autres personnes et lavez-vous régulièrement et soigneusement les mains, même lorsque vous portez un masque.

who.int/epi-win  World Health Organization

(OMS, 2021)

Lexique

- **ACE2** : Le récepteur sur les cellules hôtes humaines du virus SARS-CoV-2 est une protéine transmembranaire, l'ACE2 (c'est-à-dire l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2). Les protéines du récepteur ACE2 humain se trouvent à la surface de nombreux types de cellules humaines, y compris la paroi épithéliale des poumons, des intestins, du foie, des reins, du cœur et d'autres tissus. Le récepteur ACE2 sert de récepteur de liaison principal pour la protéine de pointe virale et aide à médier l'entrée dans les cellules humaines qui finissent par servir de cellules hôtes pour la réplication virale (Muriana, 2020).
- **Activité ribonucléase** : activité enzymatique de classe hydrolases par un domaine peptidique qui catalyse la rupture des liaisons phosphodiester des ARN (Romaric, 2012).
- **Agueusie** : correspond à la perte de goût partielle ou totale. La personne ne parvient plus à déterminer les saveurs des aliments qu'elle mange. C'est l'un des symptômes évocateurs de la Covid-19 (Marvine, 2007).
- **Anosmie** : ou la perte d'odorat, est l'un des symptômes typiques d'une infection au Covid-19. Elle peut persister plusieurs mois (Rahban, 2021). **Antigénicité** : Pouvoir pour une molécule de se comporter comme un antigène, c'est-à-dire de provoquer la production d'anticorps. Pour certains, cette définition inclue la faculté pour l'antigène de modifier le comportement immunologique de l'organisme dans lequel il est introduit sans production inéluctable d'anticorps, en induisant par exemple un état de tolérance immunitaire (Encyclopédie Santé, 2015).
- **Auto-phagosomes** : une double vésicule membranaire qui renferme des constituants cellulaires et fusionne avec des lysosomes qui digèrent ces constituants cellulaires au cours de l'autophagie (autodigestion des organites cellulaires par fusion avec les lysosomes) (Daniel, 2009).
- **Complexe héxadécamerique** : Le supercomplexe est une structure creuse unique en forme de cylindre assemblée à partir de huit copies de nsp8 et maintenue étroitement ensemble par huit copies de nsp7 (Zhai, 2005).
- **Dyspnée** : une sensation de gêne respiratoire . Il s'agit d'un symptôme subjectif. Son intensité n'est pas nécessairement en rapport avec la gravité des anomalies objectives

de la fonction respiratoire. Il s'agit d'une sensation plus ou moins angoissante ou interviennent des perturbations physiologiques, mais également des réactions psychologiques du sujet. Il convient de différencier une dyspnée aiguë (brutale, s'aggravant vite et qui demande une prise en charge rapide, comme celle accompagnant un œdème pulmonaire ou une crise d'asthme) et une dyspnée chronique (d'installation progressive, s'aggravant lentement). Celle-ci peut se produire à l'effort (dyspnée d'effort) puis de façon permanente, au repos (Passeport Santé, 2020).

- **Encéphalopathie** : est une pathologie qui touche l'encéphale, la partie du système nerveux central situé dans la boîte crânienne et comprenant les hémisphères cérébraux, le cervelet et le tronc cérébral. Elle peut survenir dans les suites d'une infection, de certaines intoxications ou être une complication par atteinte neurologique d'une maladie chronique (Quillard, Encéphalopathie : définition, causes, symptômes et traitement, 2020).
- **Endopeptidase** : Enzyme qui catalyse le clivage des liaisons peptidiques au sein d'un polypeptide ou d'une protéine (conrad, 2021).
- **Endosome** : toute vésicule formée par endocytose d'une région de la membrane plasmique (Romaric, 2012).
- **Épitope**: partie de la molécule d'un antigène qui a la propriété de se combiner avec l'anticorps spécifique correspondant (Universalis, 2021)
- **Exocytose** : déversement de produits d'une vésicule à l'extérieur de la cellule, par fusion de la membrane plasmique avec la membrane de cette vésicule. S'oppose à Endocytose (Romaric, 2012).
- **Hémoptyisie** : une expectoration de sang provenant des voies respiratoires inférieures, c'est-à-dire des bronches ou du parenchyme pulmonaire. Elle peut aller de traces de sang dans les crachats jusqu'à une hémoptyisie potentiellement mortelle avec expectoration de sang pur (Zellweger, 2018).
- **Homotrimère** : est une protéine qui est composée de trois unités identiques de polypeptide (Romaric, 2012).
- **Immunogène** : Une molécule est dite immunogène lorsqu'elle est capable d'induire une réaction immunitaire. L'immunogénicité est donc la capacité qu'a un antigène de provoquer une réponse immunitaire bien spécifique (université de Liège, 2013).
- **Immunogénicité** : la capacité de déclencher la réaction immunitaire spécifique (Romaric, 2012).

- **Lymphopénie** : est un trouble sanguin qui se concrétise par une diminution de certains globules blancs, appelés lymphocytes B et T, et affecte l'efficacité du système immunitaire. Elle est définie par un taux de lymphocytes total inférieur à 1 500 par mm³ chez l'adulte et à 4 500 mm³ chez l'enfant de moins de huit mois (Régent, 2012).
- **Niveau de biosécurité 2 (BSL-2)** Les laboratoires BSL-2 sont utilisés pour étudier les agents infectieux à risque modéré ou les toxines qui présentent un risque s'ils sont accidentellement inhalés, avalés ou exposés à la peau. Les exigences de conception pour les laboratoires BSL-2 comprennent des lavabos pour le lavage des mains, des stations de lavage des yeux en cas d'accident et des portes qui se ferment automatiquement et se verrouillent. Les laboratoires BSL-2 doivent également avoir accès à des équipements pouvant décontaminer les déchets de laboratoire, notamment un incinérateur, un autoclave et/ou une autre méthode, en fonction de l'évaluation du risque biologique.
- **Niveau de biosécurité 3 (BSL-3)** Les laboratoires BSL-3 sont utilisés pour étudier les agents infectieux ou les toxines qui peuvent être transmis par l'air et provoquer une infection potentiellement mortelle par inhalation. Les expériences sont effectuées dans des enceintes de biosécurité qui utilisent un flux d'air soigneusement contrôlé. Les laboratoires BSL-3 sont conçus pour être facilement décontaminés. Les autres caractéristiques de sécurité comprennent l'utilisation de deux portes à fermeture automatique ou verrouillées, de systèmes de ventilation filtrés. Les laboratoires BSL-3 doivent également avoir accès à des équipements pouvant décontaminer les déchets de laboratoire, notamment un incinérateur, un autoclave et/ou une autre méthode, en fonction de l'évaluation du risque biologique (Science, 2015).
- **Proinhibine-1 (PHB-1)** : un membre de la famille de protéines Band-7, est hautement conservée au cours de l'évolution, largement exprimée et présente dans différents compartiments cellulaires. Des études génétiques avec différents modèles d'organismes ont fourni des preuves solides d'un rôle biologique important du PHB dans la fonction mitochondriale, la prolifération cellulaire et le développement (Mishra, 2010).
- **Protéase de type 3C (3CL^{pro} pour 3C-like protéase)** : sont largement présentes dans les virus à ARN monocaténaire à polarité positive. Toutes sont des protéases à cystéine avec un repli de type chymotrypsine (clan PA), utilisant une dyade ou triade catalytique. Ils partagent certaines similitudes générales sur la spécificité du substrat et l'efficacité des inhibiteurs. Ils sont divisés en sous-familles par similarité de séquence,

correspondant à la famille de virus dans laquelle ils se trouvent. Comme la PLpro, la 3CLpro est considéré comme une cible antivirale intéressante car les deux sont essentielles à la réplication des coronavirus (Kim, 2012).

- **Protéase de type papaïne (PLpro pour papain-like protéase)** : est une protéase localisée dans la protéine non structurale 3 (NS3) du polypeptide viral considéré comme un cible antiviral intéressant. Elle a la fonction de retirer l'ubiquitine et l'ISG15 des protéines des cellules hôtes pour aider les coronavirus à échapper aux réponses immunitaires innées de l'hôte. En effet, l'action de la PLPro perturbe les voies de signalisation de l'INF beta et de NF-kappa B. Le ciblage de la protéase de type papaïne avec des médicaments antiviraux peut avoir un avantage non seulement en inhibant la réplication virale, mais aussi en inhibant le dérèglement des cascades de signalisation dans les cellules infectées qui peuvent conduire à la mort cellulaire dans les cellules environnantes non infectées (cliniScience, 2021).
- **Rhinorrhée** : ou Rhinorrhée infectieuse Elle est le premier symptôme de l'agression de la muqueuse par les virus. Cette rhinorrhée dure deux à trois jours. Comme dans l'allergie, elle est associée à des éternuements et une obstruction nasale. Mais pas seulement : irritation, voire douleurs pharyngées, enrouement, asthénie, fièvre... peuvent aussi être constatés. Passé ces deux-trois jours, cette sécrétion va s'épaissir et se teinter. Rassurer les patients : cela ne signe pas forcément une infection nécessitant la prise d'antibiotiques. Cette couleur est liée à la présence de polynucléaires et de débris cellulaires. On restera tout de même vigilant, une surinfection étant possible avec le développement d'une rhinopharyngite, voire d'une sinusite (Chopard, 2010).
- **Stochastique** : Avoir une distribution ou un modèle de probabilité aléatoire qui peut être analysé statistiquement mais peut ne pas être prédit avec précision.
- **Virémie** : est le terme médical utilisé pour décrire la présence de virus ou de particules virales dans le sang (Doctissimo, 2018).
- **Viroporine**: petite protéine virale multifonctionnelle, généralement hydrophobe, qui modifie les membranes plasmiques des cellules infectées pour facilite libération des virions. Ces protéines sont capables de s'assembler et former des complexes multigéniques qui agissent comme des canaux ioniques (Tozzi, 2020).
- **Zoonose** : maladie infectieuse animal transmissible à l'homme (Berthet, 2005).

Bibliographie

- Abcam. (2021). *calculating and evaluating elisa data*. Retrieved 07 18, 2021, from Abcam: <https://www.abcam.com/protocols/calculating-and-evaluating-elisa-data>
- Abcam. (2021). *ELISA principles and types*. Retrieved 07 06, 2021, from Abcam: <https://www.abcam.com/kits/elisa-principle>
- Aggarwal, A. Shrivastava, A. Kumar, A. Ali, A. Clinical and Epidemiological Features of SARS-CoV-2 Patients in SARI Ward of a Tertiary Care Centre in New Delhi . *Journal of The Association of Physicians of India*. 2020;68(7):19-26. PMID: 32602676
- Ahmad, A. T. Kisa, F. Taj, M. Urooj, F. Indrakant, K.S. Archana, S. Shaikh, M.A. Gururao, H. Gulam, M.H. Md. Imtaiyaz, H. Aperçu du génome, de la structure, de l'évolution, de la pathogenèse et des thérapies du SRAS-CoV-2: approche de la génomique structurale. *collection d'urgence de santé publique d'Elsevier*. 2020 ;1866(10):165878 pp. 6-15. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165878>
- Ajari, E. Kanyike, A.M. Ojilong, D. Olawale, A.I. COVID-19 in Uganda: Epidemiology and Response. *European Journal of Medical and Educational Technologies, EJMETs by Bastas*.2020;13(2):pp.1-11. <https://doi.org/10.30935/ejmets/8269>
- Aloisi, A. [Covid-19][Covid-19] Avec ses tests sérologiques rapides, le Français NG Biotech se démarque dans la course à la fiabilité. *IT industrie et technologies*. 2020 ;pp 1-6. <https://www.industrie-techno.com/article/Covid-19-avec-ses-tests-serologiques-rapides-le-francais-ng-biotech-se-demarque-dans-la-course-a-la-fiabilite.60091>
- Amir, I. J. Lebar, Z. Yahyaoui, G. Mahmoud, M. Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostique biologique. *OptionBio, Elsevierpublic health emergency collective*. 2020; 30(619):pp 15-20. [https://dx.doi.org/10.1016%2FS0992-5945\(20\)30178-1](https://dx.doi.org/10.1016%2FS0992-5945(20)30178-1)
- Anollés, G. D. Polymerase chain reaction. *Brenner's Encyclopedia of genetique*.2003; vol 3:pp.392-395. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.01186-4>
- Aquaportail. (2011, 6 14). *Endosome : définition, explications*. Retrieved from aquaportail: <https://www.aquaportail.com/definition-9845-endosome.html>
- Atlantic clinic. (2020, 10 20). *Comment interpréter les résultats de votre test d'anticorps du Covid 19*. Retrieved from www.atlantic-clinic.es: <https://www.atlantic-clinic.es/fr/comment-interpreter-les-resultats-de-votre-test-danticorps-du-Covid-19/>
- AximedFrance. (2021). *Diaquick Covid-19 Ag*. Retrieved 7 8, 2021, from AximedFrance: <https://www.aximedfrance.com/diagnostics/tests-rapides/maladies-infectieuses/Covid19-ag/>
- Baumforth, N. R. Nelson, P.N. Digby, J.E. O'Neil, J.D. Murray, P.G. The polymerase chain reaction. *jl clin pathol: mol pathol*. 1999; 52(1):pp.1-10. <https://doi.org/10.1136/mp.52.1.1>
- Berthet, J. (2005). *Dictionnaire de biologie* .Bruxelles: Boeck University.
- Bezier, C. A. Anthoine, G.et Charki, A. Reliability of RT-PCR tests to detect SARS-CoV-2: risk analysis. *International Journal of Metrology and Quality Engineering, EPD sciences*. 2020; 11(13):pp1-44. <https://doi.org/10.1051/ijmqe/2020014>

- Booster antibody and ELISA experts. (2021). *boosterbio.com*. Retrieved 06 17, 2021, from <https://www.bosterbio.com/newsletter-archive/20170728-which-elisa>
- Booster antibody and ELISA experts. (2021). *ELISA Handbook*. Retrieved 08 2021, 07, from Boster Biological Technology: https://www.bosterbio.com/media/pdf/ELISA_Handbook.pdf
- British society of immunology. (2021, avril). *Types de vaccins contre le COVID-19*. Retrieved juin 3, 2021, from british society of immunology: <https://www.immunology.org/coronavirus/connect-coronavirus-public-engagement-resources/types-vaccines-for-Covid-19>
- Carr, S. (2005). *Quantitative "Real Time" RT-PCR as a " + / - " test*. Retrieved 08 08, 2021, from www.mun.ca: https://www.mun.ca/biology/scarr/Principle_of_RT-PCR.html
- Carte épidémiologique Cas de COVID-19 en Algérie, C.-1. (2021, 03 08). Retrieved 09 08, 2021, from www.Covid19.cdta.dz: <https://Covid19.cdta.dz/dashboard/production/index.php>
- Carter, L. G. Garner, L.V. Smoot, J.W. Li, Y. Zhou, Q. Saveson, C.J. Sasso, J.M. Gregg, A.C. Soares, D.J. Beskid, T.R. Jerve, S.R et Liu, C. Assay Techniques and Test Development for COVID-19 diagnosis. *American chemical society central science*, ACS publication. 2020;6(5):pp.591–605. <https://dx.doi.org/10.1021%2Facscentsci.0c00501>
- CDC. (2021, 3 17). *Lignes directrices provisoires pour les tests d'anticorps COVID-19*. Retrieved 07 05, 2021, from CDC, center for disease control and prevention: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>
- Centers for disease control and prevention. (2021, 03 17). *CDC*. Retrieved 06 17, 2021, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>
- Chopard, A. (2010, novembre). *La rhinorrhée et ses subtilités*. Retrieved from le pharmacien de France : <http://www.lepharmaciendefrance.fr/article-print/la-rhinorrhée-ses-subtilités>
- Cité science . (2021, février 19). *U. Vaccin atténué, inactivé, sous-unitaire, à vecteur ou à ARN, quelles différences ?* Retrieved from Cité science : <https://www.cite-sciences.fr/fr/au-programme/lascienceestla-offre-numerique/coronavirus-ce-que-sait-la-science/u-vaccin-attenué-inactive-sous-unitaire-a-vecteur-ou-a-arn-quelles-différences/>
- Cliniscience. (2021). *SARS-CoV-2 - Antigènes (Protéines et peptides) pour la recherche et le développement*. Retrieved mai 25, 2021, from cliniscience: <https://www.clinisciences.com/achat/cat-sars-cov-2-antigenes-proteines-5102.html>
- Cliniscience. (2021, 8 3). *SARS-CoV-2 (Covid-19) : Test Rapide IgG/IgM pour le diagnostic*. Retrieved from www.clinisciences.com: <https://www.clinisciences.com/lire/newsletter-26/sars-cov-2-Covid-19-test-rapide-2264.html>
- Clinisciences. (2020). *SARS-CoV-2 - Kits ELISA - Antigènes*. Retrieved 7 2020, 8, from [clini science Réactifs et instruments pour l'immunologie](http://www.clinisciences.com),: <https://www.clinisciences.com/achat/cat-sars-cov-2-kits-elisa-antigenes-5142.html>
- Cliniscience. (2021). *SARS-CoV-2 - Protéase de type papaine (PLPro) - Antigènes (Protéines et peptides)*. Retrieved from [cliniScience](http://www.clinisciences.com): <https://www.clinisciences.com/achat/cat-sars-cov-2-protease-de-type-papaine-5137.html>

- Clinitest. (2021). *Siemens Healthineers*. Retrieved 08 09, 2021, from clinitest.siemens-healthineers: <https://www.clinitest.siemens-healthineers.com/en>
- conrad, M. (2021, 3 29). *Medical Definition of Endopeptidase*. Retrieved from MedecineNet: <https://www.medicinenet.com/endopeptidase/definition.html>
- CUSABIO. (2020). *ELISA Data Analysis*. Retrieved 08 07, 2021, from CUSABIO TECHNOLOGY LLC: <https://www.cusabio.com/m-225.html>
- Daniel, J. (2009, avril 23). *Définition médicale de l' autophagosome*. Retrieved from Merriam-webster: <https://www.merriam-webster.com/medical/autophagosome>
- De Greef, J. Pothen, L. Yildiz, H. Poncin, W. Reychler, G. Brilot, S. Demartin, S. Lagneaux, E. Lattenist, R. Lux, J. Pierman, G. Vandercam, G. Wallemacq, S. Scohy, A. Verroken, A. Mwenge, B. Liistro, G. Froidure, A. Pilette, C. Belkhir, L. Yombi, J. C. COVID-19 : infection par le virus SARS-CoV-2. *Medicine interne et maladies infectieuse, Louvain Med.* 2020;139 (5-6): pp. 290-301. <http://hdl.handle.net/2078.1/230424>
- Encyclopædia Universalis France. (2021). *Dictionnaire*. Retrieved 09 14, 2021, from www.universalis.fr: <https://www.universalis.fr/dictionnaire/epitope/>
- DocDeclic. (2021). *Illustrations médicales pour l'éducation du patient*. Retrieved from docdeclic: <https://www.docdeclic.fr/planches/prelevement-nasopharynge>
- Doctissimo. (2018, 11 19). *Virémie*. Retrieved from Doctissimo : <https://www.doctissimo.fr/sante/dictionnaire-medical/viremie>
- Egbuna, F. McHugh, J. et Cadet, M.J. COVID-19 diagnostic testing. *American Nurse*. 2021; pp.1-7. <https://www.myamericannurse.com/Covid-19-diagnostic-testing/>
- Elyse, P. et Houde. A. La PCR en temps réel: principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology*. By the Moroccan society of biology in Canada. 2020; 2(2):pp. 7-10. <http://www.rbmc.qc.ca/reviews/>
- Encyclopaedia Britannica, I. (2019, 04 18). <https://www.britannica.com/print/article/468736>. Retrieved 07 01, 2021, from Encyclopaedia Britannica: <https://www.britannica.com/science/polymerase-chain-reaction>
- Encyclopedie. (2021). *ANTICORPS MONOCLONAUX*. Retrieved from Encyclopædia Universalis france: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/anticorps-monoclonaux/>
- Encyclopédie Santé. (2015, aout 3). *Antigénicité*. Retrieved from Notre famille: <https://www.notrefamille.com/sante/encyclopedie-sante/antigenicite-10572>
- Encyclopædia Universalis France. (2021). *Dictionnaire*. Retrieved 09 14, 2021, from www.universalis.fr: <https://www.universalis.fr/dictionnaire/epitope/>
- EUROIMMUN . (2020, 5 4). *Anti-SARS-CoV-2 ELISA (IgG)*. Retrieved from www.EUROIMMUN.com: <https://www.fda.gov/media/137609/download>
- France télévision. (2020, mars 6). *Coronavirus : l'Algérie, premier foyer d'Afrique avec 17 cas, dont 16 membres d'une même famille*. Retrieved from France info : https://www.francetvinfo.fr/monde/afrique/societe-africaine/coronavirus-l-algerie-premier-foyer-d-afrique-avec-17-cas-dont-16-membres-d-une-meme-famille_3854687.html

- Gala, J. N Nyabi, O. Durant, J. Chibani, N. Bentahir, M. Méthodes diagnostiques du COVID-19. *BIOLOGIE ET TECHNOLOGIES MOLÉCULAIRES APPLIQUÉES*, Louvain médicale. 2020. pp.1-8.
<https://www.louvainmedical.be/fr/articles/methodes-diagnostiques-du-Covid-19>
- Gallota, A. Koczula, K.M. Lateral flow assays. *essays in biochemistry, Portland press*. 2016; 60(1):pp. 111-120. <https://doi.org/10.1042/ebc20150012>
- Genetex. (2021). *Kit ELISA SARS-CoV-2 (COVID-19) en sandwich de protéines de nucléocapside*. Retrieved from Genetex: [https://www.genetex.com/upload/website/product_protocol/SARS-CoV-2%20\(COVID-19\)%20Nucleocapsid%20Protein%20Sandwich%20ELISA%20Kit_GTX535824_3.pdf](https://www.genetex.com/upload/website/product_protocol/SARS-CoV-2%20(COVID-19)%20Nucleocapsid%20Protein%20Sandwich%20ELISA%20Kit_GTX535824_3.pdf)
- Genscript. (2020, 06 11). *Genscript make life easy*. Retrieved 07 01, 2021, from Genscript USA,inc: <https://www.fda.gov/media/143583/download>
- Germain, L. (2021). *Historique structure et classification des virus*. Retrieved from Slideplayer: <https://slideplayer.fr/slide/1651944/>
- Gozlan, M. Réponse immunitaire cellulaire spécifique contre le coronavirus SARS-CoV-2 : des résultats encourageants, d'autres intrigants. *Realités biomédicales, Le monde.fr*. 2020 ; 15 (9) :pp. 2. <https://www.lemonde.fr/blog/realitesbiomedicales/2020/07/20/reponse-immunitaire-cellulaire-specifique-contre-le-coronavirus-sars-cov-2-des-resultats-encourageants-dautres-intrigants/comment-page-1/>
- Guo, Y. Cao, Q. Hong, Z. Tan, Y. Chen, S. Jin, H. Tan, K.Wang, D. et Yan, Y. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Military Medical Research*. 2020;7(11):pp.1-10.<https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>
- Helmy, Y. Fawzy, M. Elasad, A. Sobieh, A. Kenney, S.P. Shehata, A.A. The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of taxonomy, genetics, epidemiology, diagnosis, treatment and control. *Journal of clinical medicine*. MDPI. 2020;9(4):pp. 1-20. <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/4/1225#>
- Hantz, S. Diagnostic biologique de l'infection à Sars-CoV-2 : stratégies et interprétation des résultats. *FRANCOPHONE DES LABORATOIRES*. 2020 ; 2020(526)pp.48-56.[https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(20\)30313-0](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(20)30313-0)
- Haq, M. A. Ashwaq, O. Sarief, A. Azad, K.J. Un examen complet sur le SRAS-CoV-2. *VIROLOGIE FUTURE*, FSG selective deposit. 2020 ; 15 (9) : pp. 625-648. <https://dx.doi.org/10.2217%2Ffvl-2020-0124>
- Haute Autorité de santé . (2006, 8 31). *Dépistage et prévention* . Retrieved from www.has-sante.fr: https://www.has-sante.fr/jcms/c_410171/fr/depistage-et-prevention
- Haute autorité de santé. (2020). *Revue rapide sur les tests de détection antigénique du virus SARS-CoV-2*. Paris. 2020 ; pp 1-42.<https://www.has-sante.fr/>
- ICTV. (2021, mars). *Virus Taxonomy: 2020 Release*. Retrieved mai 25, 2021, from ICTV: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
- Institut Pasteur Paris. (2020). *Covid-19 : Évaluation de la performance de plusieurs tests sérologiques de détection d'anticorps*. Retrieved 07 07, 2021, from Inserm: <https://presse.inserm.fr/Covid-19-evaluation-de-la-performance-de-plusieurs-tests-serologiques-de-detection-danticorps/40606/>

itriinsights. (2021, september 6). *Algeria Covid-19 (coronavirus) dashboard*. Retrieved from itriinsights.com: itriinsights.com/en/coronavirus-algerie/

JOYSBIO. (2021). *What is a Lateral Flow Assay and How Does It Work*. Retrieved from en.joysbio.com: https://en.joysbio.com/what-is-a-lateral-flow-assay-and-how-does-it-work/?fbclid=IwAR3c1rRZ8zzfvCixKFu8IKW-t0z_1HIMsODnsPUoQ1zWlxjFbrwvGdtXowE

Kadowa, I. (2020). *Using evidence and analysis for analysis for an adaptive health system response to COVID-19 in Uganda in 2020*. Virginia Knight. <https://www.equinetafrica.org/sites/default/files/uploads/documents/Uganda%20COVID-19%20Rep%202020.pdf>

Kim, Y., Lovell, S., Tiew, K., Mandadapu, S.R., Alliston, K.R., Battaile, K.P., Groutas, W.C. et Chang, K. Broad spectrum against 3C or 3C-like protease of Picornaviruses, Noroviruses and Coronaviruses. *Journal of virology, American society for Microbiology*. 2012;86(21): pp.11754-11762. <https://dx.doi.org/10.1128%2FJVI.01348-12>

Kin, N., Vabret, A. Les infections à coronavirus humains. *REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES, Elsevier public health emergency collection*. 2016 ;2016(487) : pp.1-4. [https://dx.doi.org/10.1016%2FS1773-035X\(16\)30369-0](https://dx.doi.org/10.1016%2FS1773-035X(16)30369-0)

Kojabad, A., Farzanehpour, M., Galeh, H.E.G., Dorostkar, R., Jafarpour, A., Bolandian, M., Nodooshan, M.M. Droplet digital PCR of viral DNA/RNA, current progress, challenges and future perspectives. *Journal of medical virology, Wiley online library*. 2021;93:pp.4182-4197. <https://doi.org/10.1002/jmv.26846>

Li, D., Li, J. Immunologic Testing for SARS-CoV-2 Infection from the Antigen perspective. *Journal of Clinical Microbiology, American society for microbiology*. 2021;59(5):pp. 1-12. <https://doi.org/10.1128/jcm.02160-20>

Lounis, M. A. brief review of clinical features of coronavirus disease 2019(COVID-19) in Algeria. *European journal of environment and public health, Veritas*. 2021;5(2):pp.1-7. <https://doi.org/10.21601/ejeph/10955>

Lounis, M. A. COVID-19 in Algeria; chronology and evaluation of preventive actions. *European journal of medical and Educational technologies, creative commons*. 2020;13(1):pp.1-5. <https://doi.org/10.30935/ejmets/8012>

Magniez. (2008, avril 8). *la technique d'ELISA*. Retrieved from technobio: <http://www.technobio.fr/article-18589062.html>

Mahdi, A. (2018). ELISA technical guide. *ELISA technique*, 1-37.

Mahdy, M. A., Younis, W., Ewaida, Z. Un aperçu du SRAS-CoV-2 et de l'infection animale. *frontiers in veterinary science, Nadia, M*. 2020 ;7(596391) :pp.1-12. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.596391>

Marvine, P. Perte du goût (agueusie) : durée, Covid, comment soigner ? *Le journal des femmes – santé*. 2007 ; pp.1. <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2627543-perde-gout-agueusie-Covid-19-def-duree-cause-partielle-traitement-soigner/>

Maugras, M. (2021). *ANTICORPS MONOCLONAUX*. Retrieved from Encyclopædia Universalis france: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/anticorps-monoclonaux/>

MEGANA. (2020). *MEGNA HEALTH RAPID COVID-19 IgM/IgG COMBO TEST KIT*. Retrieved 07 28, 2021, from Megna Health Inc.: <https://www.fda.gov/media/140297/download>

- Ministry of health, U. (2021, 09 07). *COVID-19 response info hub*. Retrieved 09 07, 2021, from Covid19.gou.go.ug:
<https://Covid19.gou.go.ug/statistics.html?fbclid=IwAR2cnU5rkCyX9RTDngK64kqByQlwwDiCkRHSQuL790low4H5W-SIhKI3dE>
- Mishra, S. Nyomba, G.L. Ande, S.R. Le rôle de la prohibitine dans la signalisation cellulaire. *The FEBS journal*, FEBS press. 2010 ;277(19) : pp.3937-3946.<https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07809.x>
- Moyou, E. (2021, mai 17). *Nombre d'infections dues au coronavirus par pays du monde 17 mai 2021*. Retrieved from STATISTA: <https://fr.statista.com/statistiques/1091585/morts-infections-coronavirus-monde/>
- msss,qc. (2021, mars 19). *Types de vaccins contre la COVID-19*. Retrieved from Ministère de la Santé et des Services sociaux , Québec: <https://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/Covid-19/vaccination-contre-la-Covid-19/types-de-vaccins/>
- Muriana, P. (2020, juin). *Coronavirus SARS-CoV-2 and the COVID-19 Pandemic: What is it and how does it spread?* Retrieved from Extension: <https://extension.okstate.edu/fact-sheets/coronavirus-sars-cov-2-and-the-Covid-19-pandemic-what-is-it-and-how-does-it-spread.html>
- Nadin, Y. Al-Sadeq, D.W. AL-Jighefee, H. Younes, S. Al-Jamal,O. Daas, H.I. Yassine, H.M. Nasrallah, G.K. Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Viruses,MDPI*. 2020;12(582).pp 1-27.<https://doi.org/10.3390/v12060582>
- NG BIOTECH. (2020). *NG.TEST®COVID-19*. Retrieved 07 05, 2021, from ngbiotech.com: <https://ngtest-Covid-19.com/ng-test-igm-et-igg-cassette/?cn-reloaded=1>
- NG.biotech laboratory. (2021). Test sérologique - NGTEST IgG IgM COVID19 - format Cassette. Paris, France. Retrieved from <https://www.youtube.com/watch?v=NrW2rcmK8Lk>
- Nyaruaba, R. Li, X. Mwaliko, C. Li, C. Mwau, M. Odiwour, N. Muturi, E. Muema, C. Li, J. Yu, J. Wei, H. Two-Step Reverse Transcription Droplet Digital PCR Protocols for SARS-CoV-2 Detection and Quantification. *JOVE journal, J.Vis.Exp*. 2021;(169) . <https://doi.org/10.3791/62295>
- OMS. (2020, avril). Retrieved from who: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52221/OPSFPLPCOVID-19200007_fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- OMS. (2021). *COVID-19 : l'OMS ajuste ses recommandations sur le port du masque*. Retrieved from Who: <https://www.un.org/es/node/77851>
- OMS. (2020, septembre 11). *Détection des antigènes à l'aide de tests immunologiques rapides pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2*. Retrieved from WHO: WHO/2019-nCoV/Antigen_Detection/2020.1
- OMS. (2006, octobre). *Friction lavage*. Retrieved from OMS: https://www.who.int/gpsc/tools/friction_lavage.pdf?ua=1
- OMS. (2021, avril 9). *Maladie à coronavirus 2019 (COVID-19): conseils au grand public*. Retrieved juin 3, 2021, from Organisation mondiale de la santé : <https://www.who.int/fr/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public>

- OMS. (2020, avril). *meseures de prévention* . Retrieved from organisation mondiale de la santé: https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/52221/OPSFPLPSCOVID-19200007_fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Parasher, A. Covid-19: Current understanding of its pathophysiology, clinical presentation and treatment. *Postgrad Med J, BMJ journals.* 2020; 97(1147):pp.312-320. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-138577>
- Pasquier, C. Bertagnoli, S. Dunia, et D. Izopet, J. *Virologie humain et zoonoses cours et fiche de synthèse.* Paris, France :Science de la vie, DUNOD. 2013 ;vol1(8) pp. 272. 978-2-10-059110-7. <https://www.dunod.com/sciences-techniques/virologie-humaine-et-zoonoses-cours-et-fiches-synthese>
- Passeport Santé. (2020). *La dyspnée.* Retrieved from Passeport Santé: <https://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=dyspnee>
- PCHD. (2020, 08 24). *Pike County Health Department Home Health and hospice.* Retrieved 07 28, 2021, from www.pikecountyhealth.org: <https://pikecountyhealth.org/wp-content/uploads/2020/08/COVID-19-Testing-Explained.pdf>
- Peng, T. Liu, X. L. Adams, G. Agarwal, G. Akey, B. Cirillo, J. Deckert, V. Delfan, S. Fry, E. Han, Z. Hemmer, P. Kattawar, G. Kim, M. Lee, M. Lu, C. Mogford, J. Nessler, R. Neuman, B. Nie, X. Pan, J. Pryor, J. Rajil, N. Shih, Y. Sokolov, A. Svidzinsky, A. Wang, D. Yi, Z. Zheltikov, A. et Scully, M. Enhancing sensitivity of lateral flow assay. *Applied physics Letters, AIP publishing.* 2020;117(120601):pp 1-5.<https://doi.org/10.1063/5.0021842>
- Prinzi, A. False Negatives and Reinfections: the Challenges of SARS-CoV-2 RT-PCR Testing. *American Society for microbiology* . 2020; pp.1-9.<https://asm.org/Articles/2020/April/False-Negatives-and-Reinfections-the-Challenges-of>
- Putchaoen, O. Wacharapluesadee, S.Chia, W. Paitoonpong,L. Tan, C. Suwanpimolkul, G. Jantarabenjakul, W. Ruchisrisarod, C. Wanthong, P. Sophonphan, J. Chariyavilaskul, P. Wang, L. Hemachudha, T. Early detection of neutralizing antibody against SARS-CoV-2 in COVID-19 patients in Thailand .*PLoS ONE, Jin,D.* 2021 ;16(2) :pp.1-13.<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246864>
- Quillard, M. Encéphalopathie : définition, causes, symptômes et traitement. *le journal des femmes.* 2020 ; pp.1.<https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2649661-encephalopathie-definition-causes-symptomes-traitement-de-gayet-wernicke/>
- Rahban, C. Perte de l'odorat (anosmie) : symptômes du Covid, durée, rééducation. *journal de la femme Santé.*2021 ; pp.1.<https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2627657-perde-odorat-anosmie-symptome-Covid-19-duree-definition-cause-traitement-reeducation/>
- Régent, A. Kluger, N. Bérezné, A. Lassoued, K. Mouthon, L. Démarche diagnostique devant une lymphopénie : quand penser à la lymphopénie CD4+ idiopathique ?. *La Revue de médecine interne, Elsevier Masson France.* 2012;33(11):pp.628-634. <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.revmed.2012.04.014>
- Ritchie, H. Mathieu, E. Rodés-Guirao, L. Appel, C. Giattino, C. Ortiz-Ospina, E. Hasell, J. MacDonald, B. Beltekian, D. Dattani, S. Et Max, R. (2021, aout). *Coronavirus (COVID-19) Cases.* Retrieved from Our World in Data.com: https://ourworldindata.org/Covid-cases?fbclid=IwAR1tIFtpHOKs1MIXw5-HXjtdbh_clzhsrXFnGa4OwsLWyoj5ANcJyiq7aQ4

- Romarc, F. (2012). *Dico de Bio*. Bruxelles: Boeck Supérieur. <https://www.deboecksuperieur.com/ouvrage/9782807302891-dico-de-bio>
- Rothan, H.A. Siddappa, N.B. L'épidémiologie et la pathogenèse de l'épidémie de maladie à coronavirus (COVID-19). *journal d'autoimmunité, Elsevier public health emergence collection*. 2020 ;109(102433) :pp.2-5. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102433>
- Science, s. s. (2015, 11 13). *Biosafety levels*. Retrieved 09 14, 2021, from www.consteril.com: <https://consteril.com/biosafety-levels-difference/>
- Slieman, T. Leheste, J. Introduction to immunological techniques in the clinical laboratory. *Methods in microbiology*, Elsevier. 2020 ; 7(2020): pp. 1-16. <https://doi.org/10.1016/bs.mim.2020.01.001>
- Sorsi, G. Faivre, B. et Morand, S. Expliquer la variation entre les pays du taux de létalité du COVID-19. *Scientific reports*, natureresearch. 2020 ; 10(18909) :pp.1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75848-2>
- Suo, T. Liu, X. Feng, J. Guo, M. Hu, W. et Guo, D. ddPCR: a more accurate tool for SARS-CoV-2 detection in low viral load specimens. *Emerging Microbes and infections, Francis and Taylor Group*. 2020;9(1):pp.1259-1268. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1772678>
- Tan, W. Wang, W. Xu, Y. Gao, R. Lu, R. Han, K. Wu, G. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of clinical specimens. *Letters Research letter, JAMA*. 2020;323(18):pp.1843-1844. <https://dx.doi.org/10.1001%2Fjama.2020.3786>
- The republic of Uganda ministry of health, p. r. (2020, 04 02). *Ministry of health, Government of Uganda*. Retrieved 06 05, 2021, from www.health.go.ug: <https://www.health.go.ug/Covid/2020/04/02/update-on-the-Covid-19-response-in-uganda/>
- ThermoFisher. (2021, 8 3). *Real-Time vs. Digital PCR vs. Traditional PCR*. Retrieved from www.thermofisher.com: <https://www.thermofisher.com/dz/en/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-learning-center/real-time-pcr-basics/real-time-vs-digital-vs-traditional-pcr.html#:~:text=Avantages%20de%20la%20PCR%20en%20temps%20r%C3%A9el%20%3A&text=coll ecte%20des%20d>
- Thièbaux, A. (2021, 05 10). *Immunité croisée : c'est quoi, quel lien avec le Covid-19 ?* Retrieved 07 29, 2021, from <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2638237-immunite-croisee-Covid-19-coronavirus-definition-exemple-etude/>
- Tozzi, A. (2020, 1 mai). *SARS-CoV-2 VIROPORIN : UNE CIBLE THÉRAPEUTIQUE DANS LES COULISSES*. Retrieved from The bmj: <https://www.bmj.com/content/369/bmj.m1798/rr>
- université de Liège. (2013, 1 30). *Immunogénicité*. Retrieved from Futura santé: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-immunogenicite-13234/>
- USPO. (2021, janvier 22). *Pharmaciens Valorisons Nos compétences*. Retrieved from Comprendre le vaccin ARNm, fiche pratique: <https://uspo.fr/comprendre-le-vaccin-arnm-fiches-pratiques/>
- Bonnya, V. Maillard, A. Mousseaux, C. Plaçais, L. et Richier, Q. COVID-19 : Physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. *revue de médecine interne, Elsevier Masson France*. 2020 ;41(6) : pp.375-389. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2020.05.003>
- Varshney, V. How is COVID-19 diagnosed and are the tests reliable?. *Sciences and Technology ,Down to earth*. 2020;pp. 1-3. <https://www.downtoearth.org.in/news/science-technology/how-is-Covid-19-diagnosed-and-are-the-tests-reliable--71759>

- Valère, L. (2020, 12 15). *Histoire du COVID-19 – C5 : Infectiosité et réplication hors norme du SARS-Cov2*. Consulté le 10 3, 2021, sur <https://www.francesoir.fr/societe-science-tech/histoire-du-Covid-19-chapitre-5-les-proprietes-dinfectiosite-et-de-replication>
- Wiesbauer, F. (2021, 01 07). *Medmastery*. Retrieved 08 08, 2021, from <https://www.medmastery.com/guide/Covid-19-clinical-guide/how-rt-pcr-used-test-Covid-19>
- Wikimedia Commons. (2020, mars 27). *File:The life cycle of SARS-CoV.svg*. Retrieved juin 4, 2021, from Wikimedia Commons: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:The_life_cycle_of_SARS-CoV.svg
- Yazdanpanah, F. Garg, A. Yazdanpanah, A.H. et Shadman, S. Literature Review of COVID-19, Pulmonary and Extrapulmonary Disease. *The american journal of medical science, Elsevier public health emergency collection*. 2021;361(5):pp.567-574. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2021.01.023>
- Ye, Z. Yuan, S. Yuen, K. Fung, S. Chan, C. Jin, D. Origines zoonotiques des coronavirus humains. *international journal of biological science, IVYSPRING international publisher*. 2020 ;16(10) :pp.1686-1697. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45472>
- Zellweger, L. S. Diagnostic et traitement de l'hymoptysie. *Swiss medical Forum* ,2018;18(6):pp.1-4. <https://doi.org/10.4414/fms.2018.03194>
- Zhai, Y. Sun, F. Li, X. Pang, H. Xu, X. Bartlam, M et Rao, Z. Insights into SARS-CoV transcription and replication from the structure of the nsp7–nsp8 hexadecamer. *Nature Structural & Molecular Biology* , *Nature publishing group*.2005;16(11):pp.980-986.<https://doi.org/10.1038/nsmb999>

Résumé

Pour faire face à l'émergence du *SARS-CoV-2* responsable de la pandémie mondiale de COVID-19, de très nombreux tests de dépistage moléculaire, immunologique et sérologique ont été développés et mis sur le marché dans un délai très court. Ces tests développés présentent de grande variabilité en termes de sensibilité, spécificité et de délais du rendu des résultats. Les tests immunologiques pour la détection des antigènes viraux basés sur la méthode d'ELISA ou le test rapide d'immunochromatographie à flux latéral, malgré leur faible sensibilité, présentent l'avantage d'une mise en œuvre plus simple et plus rapide. La technique moléculaire RT-PCR sur prélèvement nasopharyngique est la méthode de référence pour le diagnostic et le dépistage de *SARS-CoV-2*. Par contre la dd-PCR est une solution très efficace mais utilisée surtout dans le domaine de la recherche scientifique. Devant des tableaux évocateurs la COVID-19 avec un résultat de RT-PCR ou antigénique négatifs, une sérologie peut être recommandée avec le dosage des IgM et des IgG par la technique d'ELISA, le test d'immunochromatographie à flux latéral ou par le test de neutralisation. La sérologie est également un outil pertinent pour les études épidémiologiques. Néanmoins il est important de rappeler que le taux d'anticorps anti-*SARS-CoV-2* décroît avec le temps ce qui peut influencer les résultats des études séro-épidémiologiques. Malgré la nécessité de répondre rapidement à un besoin diagnostique urgent, il demeure indispensable de valider les méthodes choisies sur un panel d'échantillons bien caractérisé, les performances de certains tests étant parfois insatisfaisantes pour assurer un diagnostic fiable.

Mots clé : dépistage, *SARS-CoV-2*, COVID-19, RT-PCR, dd-PCR, ELISA, immunochromatographie à flux latéral, test de neutralisation, anticorps, antigènes

Abstract

To cope with the emergence of *SARS-CoV-2* the agent that is responsible for the global COVID-19 pandemic, many molecular, immunological and serological screening tests have been developed and put on market within a very short period of time. These developed tests show great variability in terms of sensitivity, specificity and time taken to achieve the results. Immunological tests for the detection of viral antigens based on the ELISA test or the rapid lateral flow immunochromatography test generally have a lower or weaker sensitivity but have the advantage of being easier to work with, more efficient and quick. The RT-PCR, which is a molecular technique using the nasopharyngeal sample for the detection of viral nucleicacids is the gold standard for the diagnosis and screening of *SARS-CoV-2*, the dd-PCR is a very effective solution too but it is mostly used in the scientific research field. In case of an assumed COVID-19 case but with a negative RT-PCR or antigen result, a serology test may be recommended for the determination of IgM and IgG by the ELISA technique, the lateral flow immunochromatography test or by the neutralization test. A Serology test is also a relevant tool for epidemiological studies. However, it is important to remember that the level of anti-*SARS-CoV-2* antibodies decreases over time and may therefore impact the results of seroepidemiological studies. Despite the need to respond quickly to an urgent diagnostic need, it remains essential to validate the methods chosen for a panel of well-characterized samples, the performance of certain tests is sometimes unsatisfactory when ensuring reliable diagnosis.

Keywords: screening, *SARS-CoV-2*, COVID-19, RT-PCR, dd-PCR, ELISA, lateral flow immunochromatography, neutralization test, antibodies, antigens

ملخص

لغرض مواجهة فيروس كورونا الجديد SARS-CoV-2 المتسبب في جائحة وباء COVID-19 العالمي، تم تطوير العديد من اختبارات الكشف وطرحها في السوق في وقت قياسي. تعتبر تقنية الـ RT-PCR من عينة مأخوذة بطريقة مسحة البلعوم خاصة هي الطريقة المرجعية للفحص وتشخيص العدوى خلال هذا الوباء كما تم طرح العديد من الاختبارات الأخرى التي أظهرت تباينا واسعا من حيث حساسيتها وسرعة إظهار النتائج. تعد تقنية الـ dd-PCR إحدى الحلول الناجعة للكشف، مع ذلك يحرص استخدامها في البحث العلمي. اختبارات الكشف عن المستضد التي تعتمد على طريقة ELISA أو اختبار الكروماتوجرافيا المناعي، تكون أقل حساسية بشكل عام ولكنها تتميز بكونها أسهل وأسرع في الأداء. في حال ما إذا أعطت اختبارات الكشف عن المستضد أو اختبارات الـ PCR نتيجة سلبية يمكن الاعتماد على طريقة أخرى تعتمد على تحليل المصل والكشف عن الأجسام المضادة من نوع IgG و IgM بتقنية ELISA أو الكروماتوجرافيا المناعي أو عن طريق اختبار التثبيط باستخدام الأجسام المضادة. اختبارات تحليل المصل تساعد أيضا على دراسة الوباء، مع ذلك يجب أخذ اختفاء هاته الأجسام المضادة لهذا الفيروس مع الوقت من المصل وبالتالي يؤثر على نتائج الدراسات. على الرغم من حاجتنا لاختبارات سريعة للكشف ولمواجهة هذا الوباء لكن يبقى من الضروري التأكد من الأساليب المختارة والتقنيات المستخدمة للكشف ودراسة الوباء لضمان التشخيص الموثوق وتجنب النتائج الغير مرضية.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire des microorganismes

intitulé

**Méthodes immunologiques, sérologiques et moléculaires de dépistage du coronavirus
*SARS-CoV-2***

Résumé

Pour faire face à l'émergence du *SARS-CoV-2* responsable de la pandémie mondiale de COVID-19, de très nombreux tests de dépistage moléculaire, immunologique et sérologique ont été développés et mis sur le marché dans un délai très court. Ces tests développés présentent de grande variabilité en termes de sensibilité, spécificité et de délais du rendu des résultats. Les tests immunologiques pour la détection des antigènes viraux basés sur la méthode d'ELISA ou le test rapide d'immunochromatographie à flux latéral, malgré leur faible sensibilité, présentent l'avantage d'une mise en œuvre plus simple et plus rapide. La technique moléculaire RT-PCR sur prélèvement nasopharyngique est la méthode de référence pour le diagnostic et le dépistage de *SARS-CoV-2*. Par contre la dd-PCR est une solution très efficace mais utilisée surtout dans le domaine de la recherche scientifique. Devant des tableaux évocateurs la COVID-19 avec un résultat de RT-PCR ou antigénique négatifs, une sérologie peut être recommandée avec le dosage des IgM et des IgG par la technique d'ELISA, le test d'immunochromatographie à flux latéral ou par le test de neutralisation. La sérologie est également un outil pertinent pour les études épidémiologiques. Néanmoins il est important de rappeler que le taux d'anticorps anti-*SARS-CoV-2* décroît avec le temps ce qui peut influencer les résultats des études séro-épidémiologiques. Malgré la nécessité de répondre rapidement à un besoin diagnostique urgent, il demeure indispensable de valider les méthodes choisies sur un panel d'échantillons bien caractérisé, les performances de certains tests étant parfois insatisfaisantes pour assurer un diagnostic fiable.

Mots clé : dépistage, *SARS-CoV-2*, COVID-19, RT-PCR, dd-PCR, ELISA, immunochromatographie à flux latéral, test de neutralisation, anticorps, antigènes

Membres du jury :

Président du jury : Boubekri Karima (Professeur - UFM Constantine 1).

Encadreur: Haddi Mohammed Laid (Professeur - UFM Constantine 1).

Examineur: Boulahrouf Khaled (Maitre de Conférences - UFM Constantine).

Présenté par : Kramia Esma et Nandi Linda Sheila

Année universitaire : 2020-2021