

INTÉRÊT ET LIMITES DE LA SÉROLOGIE COVID-19 CHEZ L'HOMME

INTEREST AND LIMITATIONS OF COVID-19 SEROLOGY IN HUMAN

Par Liliane GRANGEOT-KEROS⁽¹⁾

(Note soumise le 24 mai 2020,

Acceptée le 26 mai 2020)

Mots-clés: SARS-Cov-2, Covid-19, tests sérologiques, Elisa, TROD, TDR, spécificité analytique, spécificité clinique, anticorps neutralisants.

Key-words: SARS-Cov-2, Covid-19, serologic tests, Elisa, rapid tests, analytical specificity, clinical specificity, neutralizing antibodies.

Le diagnostic d'une infection virale aiguë, récente ou chronique repose sur la détection du virus lui-même, de ses antigènes ou de son génome. Dans le cas de la Covid-19, Le diagnostic biologique est basé sur la mise en évidence de l'ARN viral (essentiellement dans le nasopharynx), par biologie moléculaire lors de la phase aiguë de l'infection. Les seules techniques recommandées à ce jour sont des techniques reposant sur le principe de la RT-PCR. La liste des réactifs de biologie moléculaire pris en charge par l'assurance maladie a été publiée par l'ANSM le 5 mai 2020. Les performances de ces techniques sont tout à fait satisfaisantes. Les résultats faussement négatifs sont essentiellement liés à des prélèvements défectueux au niveau du nasopharynx. D'une manière générale, la détection des anticorps permet, soit de faire le diagnostic d'une infection virale aiguë/récente (dépistage des anticorps de classe IgM), soit de faire le diagnostic d'une infection chronique en mettant en évidence les IgG dirigées contre le virus (exemple, diagnostic d'une infection à VIH), soit de témoigner d'une infection, sans préjuger de la date de cette infection, soit encore, de déterminer si l'individu testé est protégé. Qu'en est-il de la place de la sérologie dans l'infection à SARS-Cov-2 ?

CINÉTIQUE DES MARQUEURS BIOLOGIQUES

Cinétique de l'ARN viral

Le délai qui s'écoule entre l'exposition au SARS-Cov-2 et l'apparition des symptômes est habituellement de cinq à six jours, mais peut aller de un à 14 jours. De nombreuses publications font état de la cinétique de l'ARN viral. Un article publié dans

Nature Medicine le 15 avril 2020 (He *et al.* 2020) montre que la charge virale est élevée dès le début des symptômes puis décroît régulièrement jusqu'à la limite de détection à la troisième semaine. La période de contagiosité débute 2 à 3 jours avant l'apparition des symptômes. Dans un autre article (Sethuraman *et al.* 2020) il est indiqué que l'ARN viral peut être détecté jusqu'à 6 semaines après le premier test positif. Toutefois, la détection de l'ARN viral ne préjuge pas de la viabilité du virus. Une étude effectuée chez 9 patients a montré que le virus n'a pas pu être mis en évidence par culture au-delà de 8 jours après le début des symptômes (Wölfel *et al.* 2020). Des études complémentaires sont nécessaires pour caractériser plus précisément la cinétique de production du virus infectieux. Dans l'attente de ces études, tout virus détecté par RT-PCR doit être considéré aujourd'hui comme potentiellement infectieux.

Cinétique des anticorps

La cinétique d'apparition des anticorps dépend du patient testé et de la technique utilisée. **Les IgM anti-SARS-Cov-2** ne sont détectées qu'à partir de la deuxième semaine après le début des symptômes et persistent un temps variable non encore déterminé avec précision (un à deux mois voire plus), étant donné le peu de recul que l'on a de cette infection. **Les IgG anti-SARS-Cov-2** sont en général détectées un peu plus tardivement que les IgM et persistent pendant une période de temps encore inconnue. Un **point important à noter**: on peut détecter simultanément le virus, par RT-PCR et les anticorps pendant quelques semaines. La cinétique de ces marqueurs biologiques est indiquée dans le **tableau 1**.

(1) Académie nationale de Pharmacie.
Courriel : liliane.keros@gmail.com

Semaines	-2	-1	1	2	3	4	5	6
PCR NP*	-	+	++	++	+	+	-	-
PCR LBA**	-	+	++	++	+	+	+/-	+/-
Culture du virus	-	+	+	-	-	-	-	-
PCR selles	-	+/-	+	+	+	+	+	+
IgM	-	-	-	++	++	+	+/-	-
IgG	-	-	-	+	++	++	++	+

↑
Apparition des
symptômes



Tableau 1 : Positivité des différents tests utilisés pour le diagnostic des infections à SARS-Cov-2. *NP : naso-pharynx **LBA : lavage broncho-alvéolaire (adapté de Sethuraman et al. 2020).

LES TESTS SEROLOGIQUES

Les techniques

La sérologie peut être réalisée au moyen de tests automatisables (enzyme-linked immunosorbent assay ou ELISA par exemple) ou de tests unitaires rapides : test rapide d'orientation diagnostique (TROD), test de diagnostic rapide (TDR), autotests.

- Les tests automatisables ainsi que les TDR sont réalisés dans des laboratoires de biologie médicale (LBM).
- Les TROD sont réalisés en dehors d'un LBM « par un professionnel de santé ou par du personnel ayant reçu une formation adaptée et relevant de structures de prévention et associatives ou du service de santé des armées ». Ces tests ne sont pas considérés comme des examens de biologie médicale !
- Les autotests sont réalisés par l'utilisateur lui-même. À l'heure actuelle, l'usage des autotests n'est pas recommandé.

Discussion des techniques

Les TROD sont considérés comme des tests rapides d'orientation diagnostique alors que les TDR sont considérés comme des tests de diagnostic rapide. D'ailleurs, dans son rapport d'évaluation datant du 14 mai 2020, la HAS indique que « les TROD ne peuvent se substituer aux examens de biologie médicale réalisés en LBM qui restent les tests de référence (ELISA ou TDR préalablement validés) et au vu des limites de leur utilisation : (i) en cas de résultat positif, le résultat devra toujours être confirmé par un test sérologique réalisé en laboratoire de biologie médicale ; (ii) en cas de résultat négatif, une confirmation par test sérologique réalisé en laboratoire de biologie médicale devra être transitoirement encouragée. »

Questions

En quoi les ELISA ou les TDR sont-ils des réactifs de référence ?

Tout au plus, les ELISA peuvent être quantitatifs alors que les TROD et les TDR sont qualitatifs. La seule différence entre les TROD et les ELISA/TDR est que les premiers ne sont pas réalisés dans un LBM alors que les seconds le sont ! Les TROD peuvent avoir les mêmes sensibilités et les mêmes spécificités que les ELISA, voire, bien évidemment, que les TDR puisque les réactifs TROD/TDR sont strictement identiques !

À quoi servent les TROD, s'il est conseillé de confirmer leurs résultats (qu'ils soient positifs ou négatifs) dans un laboratoire de biologie médicale ?

Le 20 mai 2020, la HAS a émis un avis (Avis n° 2020.0033/AC/SEAP) relatif à l'inscription sur la liste des actes et prestations mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale, de la détection des anticorps sériques dirigés contre le coronavirus SARS-CoV-2. Elle a donné « un avis favorable à l'inscription de la détection des anticorps sériques dirigés contre le coronavirus SARS-CoV-2, par technique immuno-enzymatique automatisable de type enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), ou par technique immunochromatographique unitaire et rapide appelée Test Diagnostique Rapide (TDR), sur la liste des actes et prestations, mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale ». Les TROD ne sont pas pris en compte dans cet avis !

QUALITÉ DES TESTS SÉROLOGIQUES

Avant leur mise sur le marché les tests sérologiques doivent être évalués, notamment en ce qui concerne leur sensibilité (analytique et clinique) et leur spécificité (analytique et clinique). Si les études de sensibilité sont en général bien documentées, il n'en est pas de même pour la spécificité. Rappelons qu'il existe deux types de spécificités : la spécificité analytique et la spécificité clinique.

La spécificité analytique

Elle désigne l'aptitude d'un test sérologique à ne pas présenter de réactions croisées. Dans le cadre de la Covid-19, il est notamment important de vérifier l'absence de réactions croisées avec des anticorps dirigés contre d'autres coronavirus. Sont à vérifier également les interférences potentielles avec le facteur rhumatoïde ou avec d'autres infections. Cette spécificité s'évalue en général sur quelques dizaines de sérums ;

La spécificité clinique

Elle correspond à la probabilité d'avoir un test négatif dans une population présumée saine (exemple : donneurs de sang). Cette spécificité doit être évaluée sur plusieurs centaines d'échantillons. Pour la HAS, la valeur seuil minimale acceptable pour cette spécificité est de 98% (HAS 16 avril 2020). Il est un peu surprenant que, dans son rapport d'évaluation datant du 14 mai 2020, la HAS ne tienne pas compte de la spécificité analytique et ne prenne en considération que la spécificité clinique qui, d'ailleurs est rarement évaluée sur un nombre d'échantillons suffisants !

RÔLE DES ANTICORPS DANS LA PROTECTION

La réponse immunitaire à une infection est un processus complexe. En tout premier lieu c'est l'immunité innée qui intervient très tôt après le début de l'infection. Elle est non spécifique et met en jeu de nombreuses cellules (macrophages, polynucléaires, cellules NK...). L'immunité acquise ou adaptative, qui se développe dans un second temps est, quant à elle, spécifique. L'immunité adaptative entraîne deux types de réponse immunitaire : l'immunité humorale (anticorps) et l'immunité cellulaire qui toutes deux jouent un rôle important dans la protection contre les infections virales. À l'heure actuelle, beaucoup de questions restent en suspens en ce qui concerne les anticorps neutralisants qui sont des anticorps protecteurs (i) est-ce que tous les patients développent des anticorps neutralisants (différence potentielle en fonction des symptômes et en fonction de l'âge). (ii) Quelle est la persistance des anticorps neutralisants ? (iii) y-a-t-il un lien entre la concentration d'anticorps neutralisants et la protection, notamment contre les réinfections ? (iv)... Dans l'attente de la confirmation des études en cours sur le caractère protecteur des anticorps détectés par les réactifs sérologiques, les patients chez lesquels la sérologie Covid-19 s'est révélée positive doivent continuer à appliquer strictement les mesures de distanciation physique et à appliquer les gestes barrière.

CONFLIT D'INTÉRÊT

Liliane Grangeot-Keros ne déclare aucun conflit d'intérêt dans la rédaction de cette note

BIBLIOGRAPHIE

- HAS 16 avril 2020. Cahier des charges définissant les modalités d'évaluation des performances des tests sérologiques détectant les anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2. Disponible à https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-04/cahier_des_charges_test_serologique_covid19.pdf . Consulté le 25/05/2020
- HAS 14 mai 2020. Place des tests sérologiques rapides (TDR, TROD, autotests) dans la stratégie de prise en charge de la maladie COVID-19. Disponible à https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-05/rapport_tests_serologiques_rapides_covid-19_vd.pdf. Consulté le 25/05/2020
- HAS 20 mai 2020. Avis n° 2020.0033/AC/SEAP du collège de HAS relatif à l'inscription sur la liste des actes et prestations mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale, de la détection des anticorps sériques dirigés contre le coronavirus SARS-CoV-2. Disponible à https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-05/avis_n_2020.0033acseap_du_20_mai_2020_du_college_de_la_haute_autorite_de_sante_relatif_a_linscription_sur_la_liste_des_actes.pdf . Consulté le 25/05/
- He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X *et al.* Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med.*2020; 26:672–675
- Sethuraman N; Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. Published online May 6, 2020. doi:10.1001/jama.2020.8259
- Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller M. *et al.* Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020. Published online April 1, 2020. doi:10.1038/s41586-020-2196-x