

SARS-CoV-2 : le point virologique au 01 Mai

L_ LES CHIFFRES CLES AVRIL ET LES PERSPECTIVES DE TESTS LA SORTIE DE CRISE ?

LA FIN DU CONFINEMENT AU 11 MAI SOIT 45 JOURS + 8 (POUR EVITER LES PONTS)

LE VIRUS SARS-COV-2 : SON ORIGINE ET SA NATURE

LE SARS-COV-2 ET LES AUTRES CORONAVIRUS

EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DU SARS-COV-2

LA VIABILITE DU SARS-COV-2

LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE EN FRANCE FIN AVRIL MARS : UNE DETENTE ATTENDUE

LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE EN IDF VIA LA SURVEILLANCE DES EAUX USEES

LA SITUATION MONDIALE

L'AFRIQUE, UNE BOMBE A RETARDEMENT ?

PREVENTION –PROPHYLAXIE : LES GESTES BARRIERES

INDICATIONS DU MASQUE CHIRURGICAL

INDICATIONS DU MASQUE FFP2 :

LA DESINFECTION DES MAINS PAR LA FRICTION HYDRO-ALCOOLIQUE ELEMENT ESSENTIEL DE LA PREVENTION VIROLOGIE

LES MANIFESTATIONS DE LA MALADIE DITE COVID 19

L'INCUBATION

PEDIATRIE ET FEMMES ENCEINTES

LES SIGNES CLINIQUES DU COVID 19

HLA & GENETIQUE

HYPOTHESES PHYSIOPATHOLOGIQUES

LE ROLE ACE2 ET DES IACE2 ET ARB DANS LES COMPLICATIONS :

L'IMPORTANCE DE LA CHARGE VIRALE

LA REPOSE ANTICORPS

LE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE DE L'INFECTION

LE DEPISTAGE EN FRANCE : UNE POLITIQUE ENCORE OBSCURE

QUOI PRELEVER

QUI PRELEVER

LES INDICATIONS

MODALITES DE PRELEVEMENTS POUR LA DETECTION SARS-COV2 (COVID19)

LES TESTS DE DETECTION DES ANTIGENES SUR LES ECOUVILLONS

TESTS DE RECHERCHE DE L'ARN VIRAL

LES TECHNIQUES CLASSIQUES AUTOMATISEES

LES TESTS RAPIDES MOLECULAIRES POUR L'ARN :

TESTS DE RECHERCHE DES ANTICORPS :

LES GRANDS TESTS SUR AUTOMATE :

LES TESTS EIA EN PLAQUES SEMI MANUELS _

LES TESTS RAPIDES : UNITAIRES

DETECTION DES ANTIGENES SUR LES ECOUVILLONS

LES TRAITEMENTS

LA CHLOROQUINE ET L'HYDROXYCHLOROQUINE

AUTRES MEDICAMENTS

SEROTHERAPIE ET IGG

LES VACCINS

CONCLUSION AU 24 04

ANNEXE COMMENT DEPISTER : RECOMMANDATIONS AUX PROFESSIONNELS DE SANTÉ EN CHARGE DES PRÉLÈVEMENTS DE DÉPISTAGE PAR RT-PCR

1. PROBLEMATIQUE
2. PRIORISATION DES TESTS DIAGNOSTIQUES1
3. ACTIONS ENTREPRISES ET PRECONISEES POUR FLUIDIFIER LE DIAGNOSTIC
4. PRESCRIPTION DU DEPISTAGE EN LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE DE VILLE
5. CRITERES A RESPECTER POUR LES LABORATOIRES DE BIOLOGIE MEDICALE
6. CONDITIONS DE REALISATION DES RT-PCR
7. DÉLIVRANCE DES RÉSULTATS
8. FACTURATION

l'IMEA promeut l'approche "One Health" ou Santé Globale avec l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE), l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO). Cette approche intégrée en santé humaine, animale et environnementale prend tout son sens face à l'épidémie de COVID 19 pour l'IMEA qui depuis 50 ans lutte contre les maladies infectieuses au Nord comme au Sud. Les axes de recherche et d'enseignement de l'IMEA portent particulièrement sur des pathologies souvent résultant de transmissions inter espèces prouvées ou suspectées comme le COVID19, Les VIH et les hépatites ou proches des préoccupations écologiques comme le paludisme.

*Professeur François Simon ; Virologie, Université de Paris
Directeur des Laboratoires du Groupe Hospitalier Saint Louis - Lariboisière
Directeur IMEA, Hôpital Bichat
francois.simon@aphp.fr*

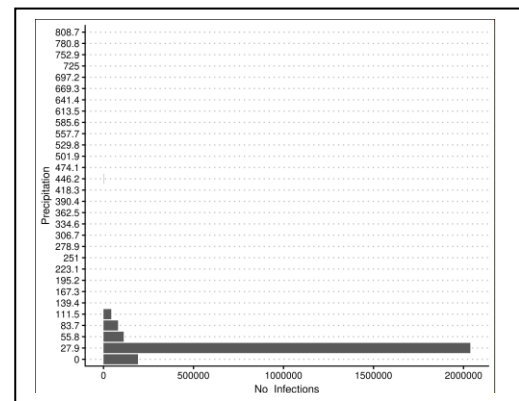
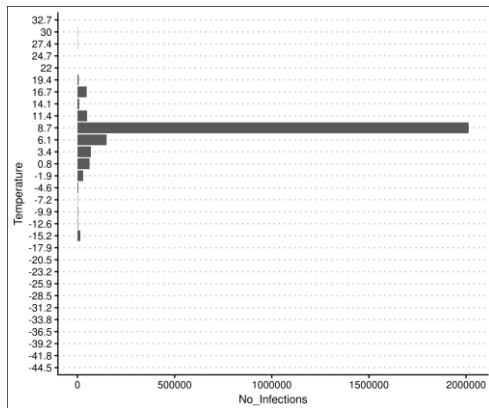
La sortie de crise ? La fin du confinement au 11 Mai soit les 45 jours prévus + 8 (pour éviter les ponts)

Voir le billet de Philippe Sansonetti au CdF
<https://laviedesidees.fr/Sortie-de-confinement-ou-la-somme-de-tous-les-dangers.html>

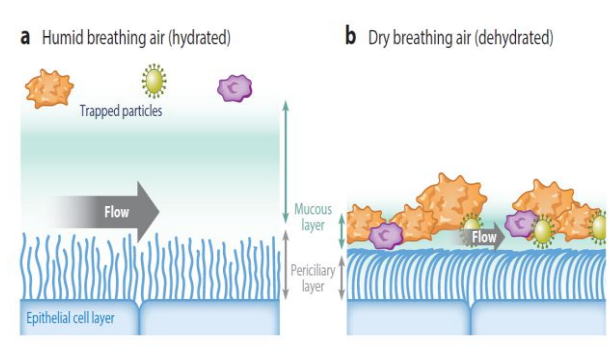
La Chine n'enregistre plus de nouveaux cas ni de nouveau décès (07 04) sauf importés d'où la crainte d'une nouvelle vague comme celle en cours à Singapour avec ses populations de migrants confinés en stalag-dortoirs. Il faut suivre l'évolution de la Lombardie qui nous renseigne sur la dynamique avec une petite dizaine de jours d'avance. Pas de dénouement avant l'immunité de troupeau soit par la contamination naturelle de xx % --peut être 60%-- alors qu'en immunité vaccinale on demande au moins...80% de la population soit par une vaccination à venir et qui nécessitera certainement des rappels. Les enquêtes en Lombardie, Oise ou autres annoncent à peine 15% de sujets contacts proches présentant des anticorps. A prendre avec beaucoup de critique vue la piètre qualité des tests actuels qui sont au mieux des EIA indirectes voire des TDR dont on connaît les valeurs prédictives limitées. Et surtout l'absence de compréhension de l'immunité post COvid des cas asymptomatiques ou pauci...Quel sera le rôle des anticorps sécrétoires SIG et de la réponse cellulaire qui peuvent être d'autant plus efficaces précocement que les patients sont pauci symptomatiques ? Et que les Ig G tardives seraient produites au mieux à taux faibles ; le switch isotypique Ig A vs Ig M vs Ig G reste pour le moins obscure en infectiologie virale respiratoire. C'est l'objet de notre protocole d'étude COV-IgA se mettanta en place

De fait au fil des années à venir et de la montée des immunités de par le monde, le SARS-CoV-2 s'ajoutera à la liste de la vingtaine de pathogènes respiratoires nécessitant une surveillance médicale et sa recherche fera partie des bilans systématiques hospitaliers dits syndromiques. Dans quelques années ! D'ici là..

Vers un été COVID-free ? Un fort lien entre température et humidité : biais épidémiologique ou réelles conditions favorisantes ?



Cas de SRAS-CoV-2 vs le gradient mondial de températures moyennse et des précipitations entre janvier et mars. Araujo and Naimi medRxiv <https://doi.org/10.1101/2020.03.12.20034728> La propagation actuelle suggère que le Coronavirus affiche une préférence pour les climats frais et sec tout comme le SRAS-CoV rendant improbable une pandémie synchrone. Au contraire les régions tempérées froides et sèches resteront sa terre de prédilection, attaquant marginalement les zones arides et les tropiques. Les facteurs environnementaux de température et d'humidité, d'ensoleillement, dans la modulation des réponses immunitaires intrinsèques, innées et adaptatives aux infections virales dans les voies respiratoires sont fondamentaux. Quant aux populations confinées avec des circulations d'air asséchées (ie Porte-Avions, Diamond Princess et autres casernes) leur fragilité face au virus n'est plus à démontrer.



L'inhalation d'air sec et froid affecte directement la muqueuse des voies respiratoires supérieures, altère la clairance mucociliaire et augmente la production de mucine. L'inhalation d'air provoque des dommages épithéliaux. Une courte période de lumière du jour et une carence en vitamine D qui en résulte altèrent la clairance directe des agents pathogènes. Air froid et sec altère les réponses immunitaires innées antivirales locales après une infection virale.

Moriyama et al Annals Rev Virol 2020 7 :2.1-2.19 ; En attendant la poursuite du semi confinement reste de rigueur

Les chiffres clés au 01 MAI et les perspectives de tests

A ce jour les chiffres ne sont pas comparables d'un pays à l'autre selon la généralisation ou non des tests et des reports des décès.

Aucun chiffre délivré par la Chine et de nombreux autres pays dont le nôtre compte tenu des différences de politique de dépistage et de l'absence de sérologie --ne peut être validé. Ce qui est clair est que la Chine a beaucoup tardé à prendre les choses en main et que le 17 novembre le virus circulait déjà depuis de nombreuses semaines....

Mortalité globale 0,5 à 1 %, variable d'un pays à l'autre. 20-25% au-delà de 80 ans. En réanimation en France 50% de décès en réanimation dont 80% sont en surpoids. Sinon mauvaise grippe pour les autres. Nombreuses formes pauci symptomatiques (ie : anosmie isolée, conjonctivite sévère, toux simple avec ou sans fièvre....toute la gamme des signes pseudo grippaux) et des complications : orage cytokinique, coagulopathie, atteinte directe cœur, reins et SNC...

Incubation 5 à 6 jours. Dure une semaine avec toutes les formes cliniques possibles y compris pédiatriques. Les complications arrivent généralement vers le 7ème jour avec de sensible progrès de prise en charge. La réanimation et l'O₂ précoces favorisent le pronostic. Facteur aggravant âge, HTA obésité/diabète. Existence de formes gravissimes rares chez des patients parfois jeunes sans comorbidité (orage cytokinique). Excrétion logue de virus de 15 jours à 3 semaines chez le sujet pauci symptomatique et jusqu'à 45 jours chez les patients sévères ; Aucun traitement anti viral ne montre une activité clinique réelle à ce jour. Aucun test sérologique n'est validés. Aucun test antigénique disponible avec une évaluation positive. Les conditions de prélèvements sont aussi en pleine mutation.

Aucune idée sur l'immunité résiduelle ; surtout locale chez les asymptomatique ? aucune évaluation immuno-viro-sérologique chez les asymptomatique (il est vrai difficile à conduire) soit 80% de la population jeune et 20 % des personnes > 60 ans

Information limitée sur la situation en Afrique

Les formes graves sont rarissimes si < 30 ans. Peu d'atteinte clinique chez les enfants> : les anticorps anti-coronavirus étant moins fréquents chez les enfants que chez les adultes, la présence d'une immunité croisée augmenterait la réponse induite par une infection antérieure au coronavirus humain. Sur cette hypothèse, l'immunisation contre le SRAS-CoV de 2003 s'est avérée aggraver l'infection due aux coronavirus de type SRAS dans un modèle murin. (? ?)

Nombreux clusters hospitaliers. Infections nosocomiales attendues

L'accès aux tests PCR est élargi aux Ehpad et le sera grand public possiblement après le 11 mai avec le développement des automates de haut débit mises en place dans toutes les régions

Quant aux tests sérologiques – jamais validé chez les asymptomatiques seuls quatre fabricants peuvent prétendre fournir sérieusement au niveau planétaire. Les tests rapides – made in China ou ailleurs en Asie- ou revendus sous appellation européenne (de fait avec des protéines made in China) ne seront d'aucune utilité et risquent de faire perdre du temps (et de l'argent) vues leurs valeurs prédictives; les premières évaluations confirment le manque total de sensibilité de ces tests rapides de détection des antigènes à partir des écouvillons ou les test rapides de détections des anticorps IgM ou IgG. Des centaines de tests parfois frauduleux affluent de toutes parts alléchés par un marché considérable.

Quant aux premiers tests Elisa commercialisés, on revient pour certain en 1985 avec parfois des tests par lysats viraux ou par recombinant de fabrication artisanale. Ni la sensibilité ni la spécificité attendues ne seront au rendez vous et leur format microplaque les condamne à un faible débit pour des études anecdotiques ou pour les premiers sondages épidémiologiques pour autant que leur sensibilité ne soit pas trop mauvaise.

Seuls les tests Elisa capables de très haut débit, automatisés, basés sur la chemoluminescence ultra sensible sur des protéines recombinantes ou peptidiques de haute qualité, capables de détecter les Ig A, les IG M et Ig G en mode sandwich et/ou immunocapture, spécifiques, reproductibles pourront répondre à nos besoins pour tester une large partie de la population. On en est loin au 01 MAI.

Abbott propose son test qui utilisé sepeu peu dans les hopitaux universitaires sur Architect ou sur Alinity (début mai) . Pas avant 5 à 6 semaines pour les autres candidats répondant à ces critères, Siemens, Roche ou Beckman utilisés par les gros labo privés. Diasorin a libéré son test sur Liaison pour les plateformes de moyen débit. Il faut que les productions suivent (valable pour tous)

Les centres de transfusion sanguine sont capables de tester des dizaines de millions d'échantillons par an. Leur suppléance serait bien venue. Pas certain qu'ils soient chauds pour reprendre du service en sanitaire....

Le virus SARS-CoV-2 : son origine et sa nature

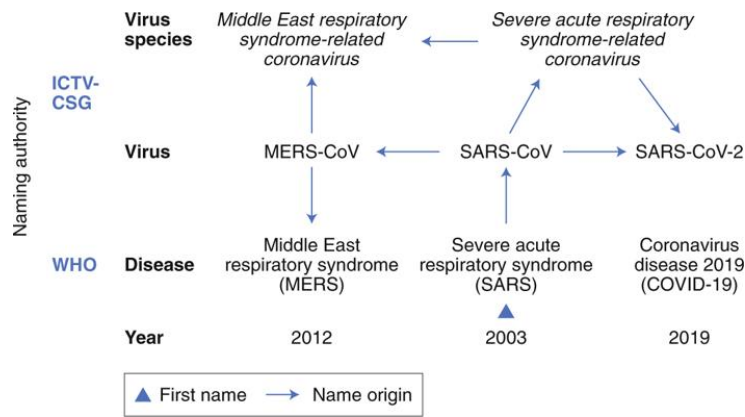
Ce nouveau virus chez l'homme est un β -coronavirus désigné **SARS-CoV-2** (anciennement 2019-nCoV) qui partage 96,3% de l'identité génomique avec la séquence du virus BatCoV RaTG13, qui est un virus de la chauve-souris de la province de l'Hubei (à 1 150 km au sud de Pékin et 700 km à l'ouest de Shanghai. Il n'y a – à cette heure - pas de recombinaison majeure mais juste une dérive génétique classique entre SARS CoV-2 et BatCoV RaTG13, % à l'exception d'un segment de six acides aminés de la spicule, fragment qui pourrait avoir été transféré lors d'une recombinaison entre BatCoV RaTG13 et pangolin-CoV. Ce sont tous les deux des β -coronavirus comme le virus du SARS. Les chauves-souris sont porteuses de coronavirus bien connus (SARS, MERS...) et contaminent probablement par leurs urines ou déjections un hôte intermédiaire comme le pangolin ou autres. SARS-CoV-2 semble bien adapté aux mammifères puisque l'on a retrouvé des chiens de compagnie porteurs infectés par les contacts avec leurs maîtres sans qu'une contamination inverse chien – homme soit rapportée à ce jour. La spécificité d'espèce propre aux virus semble mise à mal car après les chiens ce sont les chats en Chine qui ont été identifiés porteur du Sars-CoV-2. Les USA ne pouvant faire moins, c'est un tigre du zoo de New York porteur le 06 avril et pris de toux. D'autres tigres et lions dans les zoos US avec une transmission inter félins dans les zoos à partir d'un soignant COVID19 positif !. **Idem lors d'études expérimentales en Chine sur les chats domestiques et aussi le rapport sur le tigre 'T21' dans une réserve en Inde , confirmé SARS COV 2 + et décédé début Avril d'une pneumopathie. Idem en France confirmée par Maisons Alfort, la contamination de chat domestique par leur propriétaire SARS-CoV-2 positif.**

Au-delà de l'anecdote, la constitution d'un réservoir de Sars-CoV-2 chez les mammifères domestiques de compagnie n'est pas une excellente nouvelle. L'hôte intermédiaire, le pangolin probablement, contamine l'homme par sa proximité, ses déjections, ses morsures ou autres. Cet accident dit de transmission inter espèces serait probablement survenu au début de l'automne selon les rétro calculs basés sur la dérive génétique entre virus BatCoV RaTG13 et SARS-CoV-2. Voire plus tôt dans l'année 2019 comme le laisse penser la situation épidémiologique du Hubei et l'importance du nombre de cas non liés au marché de gros de fruits de mer et poisson de Wuhan et signalés pour la première fois le 31 décembre 2019.

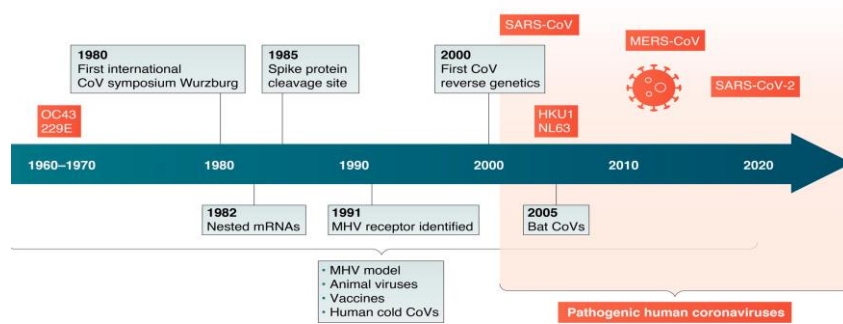
La suite est facile à imaginer dans un pays comme la Chine et ses 1.5 milliards d'habitants. Les autorités sanitaires chinoises sont responsables de ce désastre, la commercialisation de viande d'animaux sauvages étant normalement strictement interdite en Chine depuis l'épidémie de SARS en 2003.

LE SARS-CoV-2 et les autres coronavirus

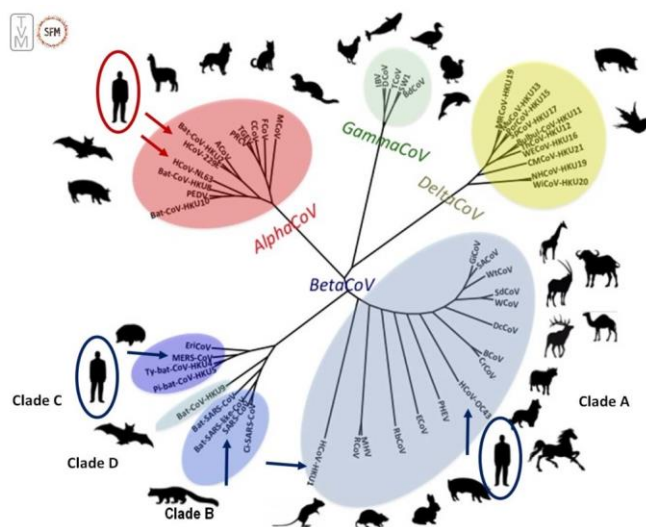
De très nombreux coronavirus infectent les hommes et les animaux. Chez l'homme on compte 7 coronavirus dont 3 peuvent donner des infections graves : MERS-CoV (épidémie toujours en cours), SARS-CoV (virus disparu après l'épidémie de 2003) et le **SARS-CoV-2** (anciennement nCoV 2019).



Les autres coronavirus humains (désignés sous HCoV avec les acronymes HKU1, OC43, NL63 et 229 E) ne sont guère dangereux sauf pour les patients immunodéprimés. Ce sont les virus qui donnent ce que l'on nomme communément un rhume. Les enfants les contractent très jeunes et nous sommes tous infectés sous toutes les latitudes. Résumé par Suzan Weiss in J. Exp. Med. 2020 Vol. 217 No. 5 Rockefeller University Press



Il existe de très nombreux coronavirus comme le montre ce schéma indiquant la présence de ces virus dans une large partie du monde animal.



Un peu de phylogénie

Les comparaisons des gènes des différents coronavirus montrent bien la proximité de ces gènes entre le **SARS-CoV-2** et virus BatCoV RaTG13 des chauve-souris d'une part et avec le virus du SARS. Egalement la grande proximité génétique avec le SARS CoV.

Le **SARS-CoV-2** n'est pas lui-même un recombinant majeur et garde l'organisation génomique du BatCoV RaTG13. Ce dernier par contre pourrait être le résultat de recombinaison entre d'autres coronavirus des chauves-souris. Ce qui est banal et très commun.

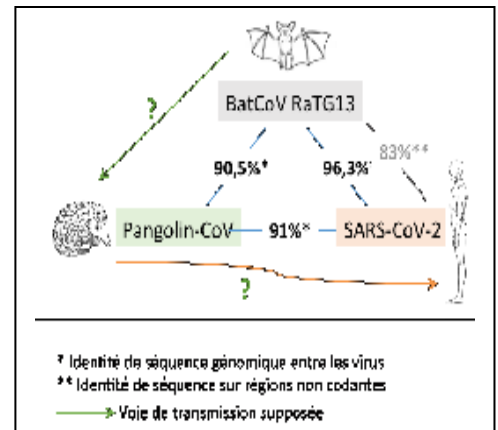
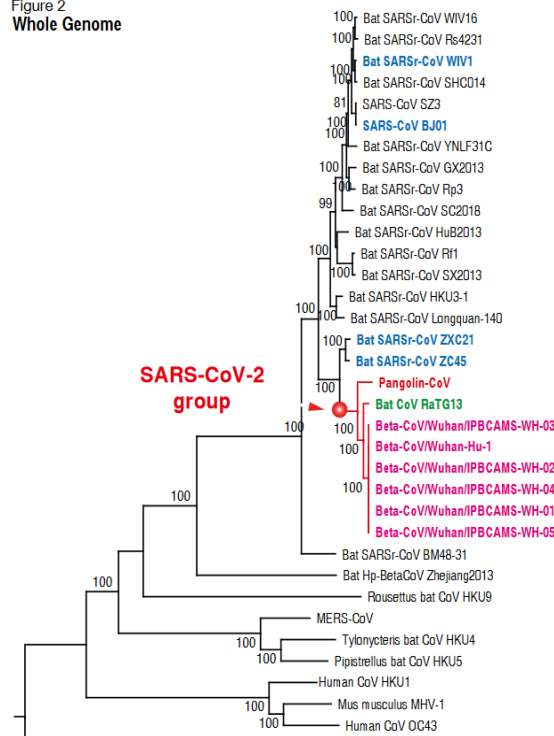


Figure 2
Whole Genome



Le virus Pangolin-CoV est 91.02% et 90.55% identique aux SARS-CoV-2 et BatCoV RaTG13. La protéine S1 codée par le Pangolin-CoV est plus proche de celle du SARS-CoV-2 que celle de RaTG13. Peut être une adaptation au récepteur humain ACE2

La variabilité entre les nucléotides du génome de SARS-CoV-2 et du virus RaTG13 de la chauve-souris a été globalement estimée à 4 %. Si l'on s'intéresse aux seuls sites neutres donc de mutations simples et sans conséquences pour le virus mais qui représentent son évolution sans pression, la valeur correspondante atteint alors 17 %. **Ce qui indiquerait que le passage est plus ancien que cet automne** et que la circulation chez l'homme est plus précoce que présentée par les autorités, que cette circulation soit sous forme essentiellement asymptomatique ou sous forme symptomatique non identifiée. D'où un important nombre de cas dans le Hubei, véritable réacteur de l'épidémie.

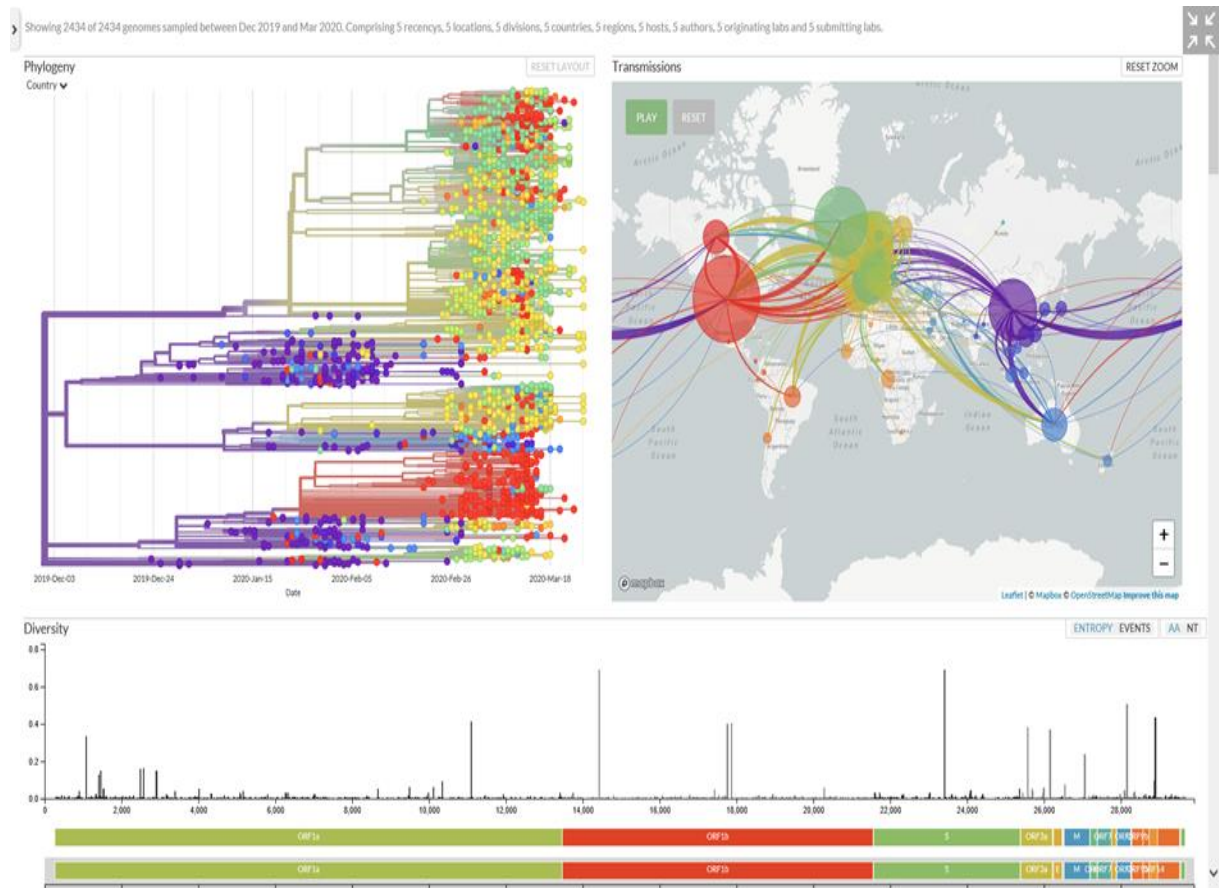
Epidémiologie moléculaire du SARS-CoV-2

A ce jour au moins 3000 souches ont été complètement séquencées – sans que l'on comprenne très bien le pourquoi du comment sinon que le NGS permet désormais des séquences plus rapides ! Aucune recombinaison,

et les mutations observées sont celles naturelles de ce type de virus. Cela conforte la phylogénie. On retrouve les 3 grands axes en phylo géographie consultable sur :

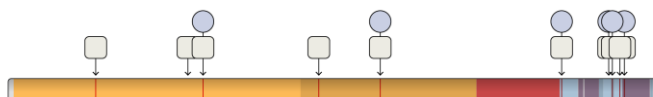
<https://www.gisaid.org/epiflu-applications/next-hcov-19-app/>

La numérotation des sites et la structure du génome sont celle de la souche Wuhan-Hu-1/2019 comme référence. La phylogénie est enracinée par rapport aux premiers échantillons de Wuhan. La résolution temporelle se base sur un taux de substitution des nucléotides de 8×10^{-4} subs par site et par an.



SARS CoV 2 mute très lentement ;

Il n'a pas besoin de muter par ailleurs car ne subit pour l'heure aucune pression. C'est l'épidémie idéale : résistant répliatif et absence d'immunité de 7 milliards d'individus : a ce stade de la pandémie, les génomes des coronavirus comportant 10 mutations ou moins sont courants, et seul un petit nombre d'entre eux présentent plus de 20 mutations - ce qui représente toujours moins de 0.1% du génome.



mutation positions VIC995, collected on March 31 from a woman in Victoria, Australia

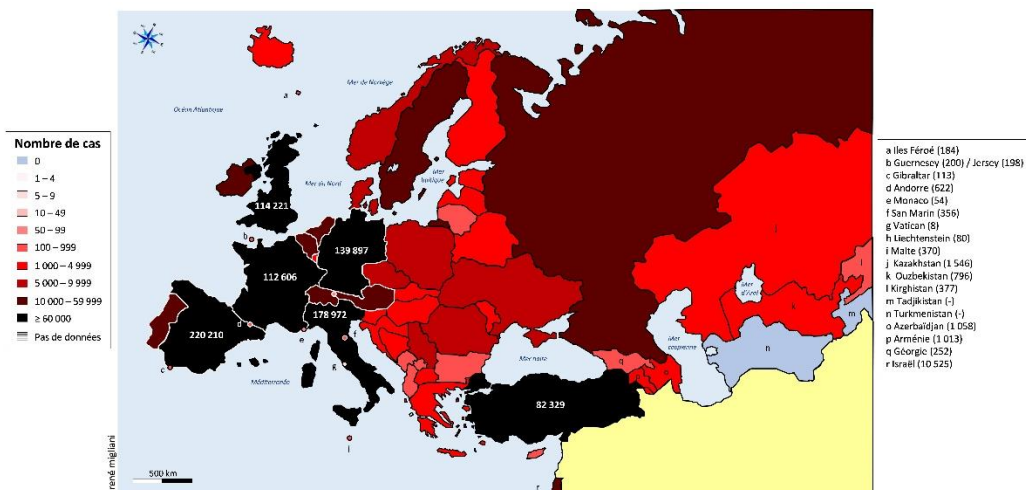
La situation épidémiologique en France fin Avril : une détente attendue

On dépasse désormais les 15 000 dépistés confirmés et 25 000 décès. Il faut probablement multiplier par 20 ou 30, ce chiffre pour la prévalence réelle. On devrait théoriquement être près de 4 millions de porteurs / ex porteurs du virus en France . Les MG déclarent déjà plus de 1.5 M de cas de COIV 19 en France et vont annoncer sous peu les décès suspectés... Le meilleur système de santé au monde va devoir vivre une introspection poussée

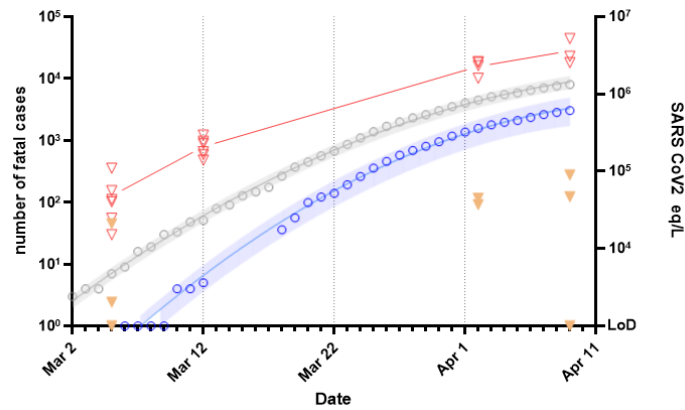
Les premières remontées sérologique doivent être critiquées à l'a ulne de notre absence de connaissance des réactions immunes (locales ou systémique ? ou les deux ou aucne ?) des a ou pauci- symptomatiques.

Au niveau moléculaire l'étude de l'IPP montre un aspect monophylétique et un grand rôle des asymptotique dans la transmission en France : Le séquençage a été mené à partir des prélèvements issus de 97 patients français (et 3 cas algériens). Les premiers cas symptomatiques de touristes chinois provenant de Hubei et de touristes français revenus d'Italie et diagnostiqués en France n'ont pas donné lieu à une transmission locale grâce à leur confinement. Parallèlement, ces données génomiques révèlent ensuite la circulation prédominante de virus d'un même clade dans de nombreuses régions françaises, compatible avec de multiples introductions. La séquence la plus précoce de ce clade, du 19 février 2020, correspond à un cas sans historique de voyage, ce qui implique une circulation locale silencieuse du virus avant la vague de cas de COVID-19. les autres génomes identifiés correspondent à des patients ayant des antécédents de voyage dans plusieurs régions du globe (Europe, Madagascar, Égypte, Émirats Arabes Unis) et semblent issus d'un clade commun. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.24.059576>

Un travail de précision est réalisé et réactualisé en permanence par point de situation par René Migliani : <https://www.mesvaccins.net/web/news/15504-situation-hebdomadaire-de-la-pandemie-de-covid-19-n-5-22-avril-2020>



La situation épidémiologique en IDF via la surveillance des eaux usées



- La situation surtout en région parisienne (mais aucune région ne peut être épargnée) s'est dégradée vite et fort, compte tenu de la désorganisation générale, des conditions de vie (concentration transport) et du sens civique limité de nos concitoyens. La levée de confinement risque de se traduire par un boost de contamination.
- SARS-CoV2 dans des échantillons d'eaux usées en région parisienne : Quantification des génomes du SRAS-CoV2 bruts (triangles rouges inversés ouverts) ou traités eaux usées (triangles rouges inversés pleins) de 3 Stations d'épuration; nombre de cas mortels de COVID-19 en France (en gris) ou en région parisienne (cercle ouvert en bleu foncé)

La situation mondiale

On dépasse désormais largement les 3 millions avec une mortalité de + 250 00 patients décédés les USA et pays européens étant en première ligne Italie France Espagne UK... Quant à la Chine... Mais tous ces chiffres n'ont guère de sens et ne peuvent être comparés tant les comptages sont différents. A relativiser car beaucoup de cas ne sont pas identifiés : sous-rapport des autorités chinoises et autres ? grand nombre de patients sans symptômes (au moins 20%) et les formes bénignes fréquentes. Sans ce dénominateur on ne peut connaître exactement la mortalité, l'incidence, les prévalences... réelles. Mais la mortalité est sûrement de moins de 1 % et varie grandement avec l'âge, les comorbidités (HTA, insuffisance cardiaque, diabète) et les conditions sanitaires du pays. Des tableaux très sévères identiques au SARS 2003 sont observés chez des jeunes hommes sans comorbidité ni super infection. Avec une forte létalité.

<https://gisanddata.maps.arcgis.com/apps/opsdashboard/index.html#/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>

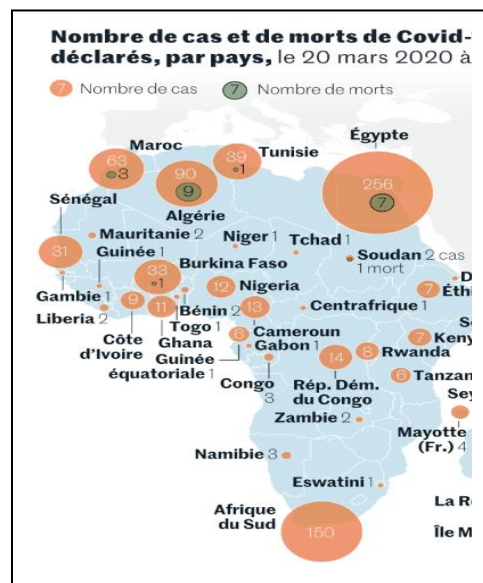


Il faut probablement miser sur une situation de crise jusqu'à l'été et une vraie reprise à la rentrée de septembre. Pour l'hiver prochain les premiers vaccins seront prêts mais certainement pas distribués (au moins 50 fabricants ont engagé la lutte pour sortir le vaccin...). Sanofi a l'avantage d'avoir un modèle SARS prêt et d'assurer la fabrication locale et une distribution à grande échelle tout comme Johnson, GSK et Merck. A adapter en terme antigénique au SARS CoV-2. A valider, à contrôler et à produire! Le vaccin ne sera pas disponible avant au mieux début 2021. Les enjeux de fabrication à l'échelle mondiale sont immenses et donc l'accès sera limité aux professionnels et personnes à risque

L'Afrique, une bombe à retardement ?

La plupart des pays sont rentrés en confinement. L'avantage est celui d'une population extrêmement jeune -- 60% des 1,26 milliard d'habitants Africains ont moins de 25 ans -- et d'habitat dispersés en dehors des villes permettant une immunité collective en montée douce. Mais les conditions sanitaires sont préoccupantes et risquent de concourir à une catastrophe

Mise en place à l'initiative de Nick White et du DnDi de la " COVID-19 Clinical Research Coalition" see www.imeafrica.org
Initiative à laquelle participe l'IMEA



La situation au Congo DR : cela se complique : u 1er mai 2020, 604 cas dont 32 décès et 7 guérisons ; le Nord-Kivu et l'Ituri sont des régions où la transmission d'Ebola est en cours et des zones de conflits armés compliquant encore plus les activités de prévention. The 7 provinces affected:

- Kinshasa: 579 cases (30 health zones affected out of the 35 existing);
- Haut-Katanga: 6 cases;
- Kongo Central: 6 cases;
- North Kivu: 6 cases;
- South Kivu: 4 cases;
- Ituri: 2 cases;
- Kwilu: 1 case

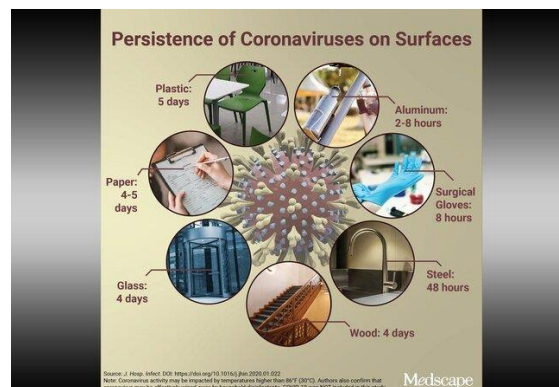
Viabilité du SAR S-CoV-2

Elle pose beaucoup de questions: il est bien résistant, gardant sa capacité d'infection en aérosols pendant toute la durée d'une expérience de 3 heures, avec une réduction du titre infectieux de $10^{3.5}$ à $10^{2.7}$ DICT50 par litre d'air. Il est plus stable sur le plastique et l'acier inoxydable que sur le cuivre et le carton. Il reste viable jusqu'à 72 heures après l'application sur ces surfaces bien que le titre soit fortement réduit. Sur le cuivre, aucun CoV-2 SARS viable n'a été mesuré après 4 heures, reflet probable de l'activité anti infectieuse du cuivre. Sur le carton, aucun CoV-2 viable n'a été mesuré après 24 heures.

Des échantillons d'air et de surface ont été testés entre dans les unités de soins intensifs ICU et les services classiques à Wuhan. La contamination était plus importante dans les ICU et largement distribuée sur les sols, les souris d'ordinateur, les poubelles et les mains courantes des lits et détecté via aérosolisation jusqu'à environ 4 m des patients. EID 110 04 Zhen-Dong Guo et al <https://doi.org/10.3201/eid2607.200885>

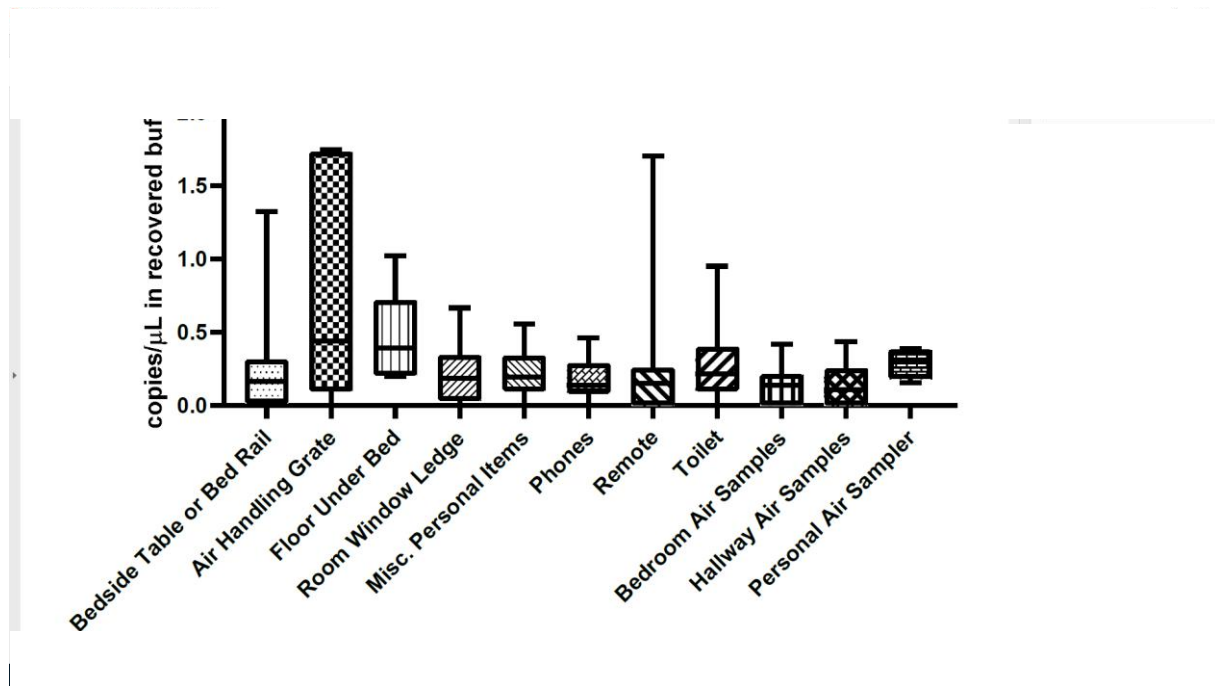
Au cours de l'isolement initial de 13 patients (University of Nebraska Medical Center) des échantillons d'air et de surface ont été prélevés dans onze salles d'isolement : les symptômes et l'excrétion virale dans l'environnement étaient très variables entre échantillons d'air et fomites présentant des signes de contamination virale, ce qui indique bien que le SRAS-CoV-2 est rejeté dans l'environnement sous forme de particules expirées. La maladie transmise à la fois par contact direct (gouttelettes et de personne à personne) ainsi que par contact indirect (objets contaminés et transmission aéroportée)

medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.23.20039446>. Ce papier indique la persistance des ARN viraux sur les différentes surfaces de chambres hospitalières...



L'éthanol et le 2-propanol sont efficaces pour inactiver le virus **en 30 s** à une concentration > 30% (vol / vol). L'alcool constitue la base de nombreux désinfectants pour les mains couramment utilisés

ATTENTION le temps d'inactivation défini d'exactement 30 s, rarement réalisé dans la pratique.



La somme de ces données de phylogénie moléculaire, de résistance du virus dans le milieu extérieur, d'une forte réplication et de la diffusion par voie respiratoire, de prévalence dans le Hubei liée au retard des autorités chinoises et des prévalences dans les foyers secondaires, du $R_0 > 2$ et d'une longue durée possible de portage du virus par les patients -- jusqu'à 3 semaines et plus lors des cas graves-- explique l'incidence actuelle et la diffusion mondiale. La pathogénicité modeste de 15 % de cas graves et 5% de formes sévères de ce pathogène respiratoire compte tenu de sa prévalence conduit donc à une asphyxie des systèmes de santé

Liu et al Nature April 27 sur l'aérosolisation du SRAS-CoV-2 dans différentes zones de deux hôpitaux de Wuhan. Les concentrations d'ARN étaient bas dans les salles d'isolement et chambres de patients ventilées mais élevées dans les toilettes des patients. Les niveaux d'ARN du SARS-CoV-2 en suspension dans l'air étaient indétectables sauf dans deux zones sujettes à surpopulation probablement en raison de porteurs infectés dans la foule. Certaines zones du personnel médical avaient initialement des concentrations élevées d'ARN réduites à des niveaux indétectables après la mise en œuvre de procédures de désinfection rigoureuses. établi l'infectiosité du virus détecté dans ces zones hospitalières la ventilation des pièces, les espaces ouverts, la désinfection des vêtements de protection, ainsi que l'utilisation et la désinfection appropriées limitent efficacement la concentration d'ARN du SRAS-CoV-2 dans les aérosols. (Quelle infectiosité FS)

Prévention –prophylaxie : Le masque et les gestes barrières (voir annexe)

Aucune prophylaxie médicamenteuse pour l'heure. Une étude Kaletra versus Chloroquine est proposée pour la prophylaxie des soignants. Aucune de ces molécules n'a fait preuve d'activité cliniquement. Il n'y a donc rien à n'espérer d'autant que *in vitro* sur la base des sensibilités en CI 50 des plasmodium à la CQ (10 nM) la CI 50 du SARS COV 2 exige 20 microM soit 2000 fois plus.. No comment (sauf peut-être en activité anti-inflammatoire prévenant l'orage cytokinique ce qui reste à prouver...)

Porter des masques chirurgicaux c'est bien, des FFP 2 c'est mieux. Si vous êtes malade (du Covid 19 ou autre !), vous "protégez" les autres (au moins des postillons sinon des virus).

Rester à distance des interlocuteurs (>1.80 en France et 6 pieds aux USA !!) ; éviter les endroits confinés et les grandes gueules (surtout au-delà de 10 minutes de présence). En cas de contacts extérieurs, lavage de mains sérieux au savon et si pas de possibilité utiliser une solution hydro-alcoolique.

L'éthanol et le 2-propanol sont efficaces pour inactiver le virus **en 30 s** à une concentration > 30% (vol / vol). L'alcool constitue la base de nombreux désinfectants pour les mains couramment utilisés

ATTENTION le temps d'inactivation défini d'exactement 30 s, rarement effectué dans la pratique.

L'avis du NEJM on line du 03 04 par Michael Klompas et al sur le port du masque :
Le port d'un masque à l'extérieur des établissements de santé offre peu ou pas de protection contre les infections. Une exposition importante au Covid-19 est un contact face à face à moins de 1.80 m avec un patient présentant un SARS-CoV-2 pendant quelques minutes (pour certains de 10 minutes voire 30 minutes). La chance d'attraper Covid-19 au cours d'une interaction passagère dans un espace public est donc minime. Dans de nombreux cas, le désir d'un masquage généralisé est une réaction à l'anxiété liée à la pandémie. Un masque est un élément essentiel de l'équipement de protection individuelle (EPI) mais ne protège pas des gouttelettes qui peuvent pénétrer dans les yeux, des fomites sur le patient ou dans l'environnement rapportés par les mains sur le visage compte tenu que les porteurs de masques entraînent une tendance accrue à toucher leur visage). Par contre, la transmission par des personnes asymptomatique est documentée, même si l'on ne peut en mesurer l'impact sur l'épidémie (Rothe C, et al. N Engl J Med 2020;382:970-971) et le masque réduit la probabilité de cette transmission des agents de santé et personnes a- ou pauci-symptomatiques à d'autres qui pourraient introduire le virus dans un établissement de soin. Un masque doit être accompagné d'une hygiène méticuleuse des mains, d'une protection oculaire, de gants et d'une blouse.

Indications du masque chirurgical (voir annexe)

Toute personne, patient ou personnel, qui a des signes d'infections respiratoires (fièvre, toux, rhume, syndrome grippal...) doit porter un masque chirurgical pour limiter la projection de gouttelettes.

Indications du masque FFP2 :

Protection des personnels prenant en charge les patients :

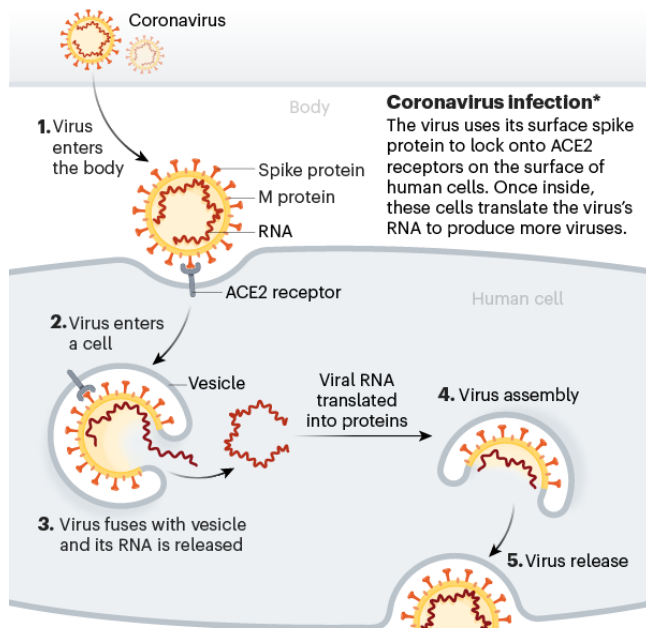
- en priorité ceux atteints de tuberculose, rougeole : indications indiscutables
- patients immunodéprimés dès sa sortie de la chambre (examen, ...)
- cas confirmés COVID-19, notamment les plus graves
- cas possibles COVID-19 très symptomatiques.

La désinfection des mains par la friction hydro-alcoolique est un élément essentiel de la prévention

- avant et après chaque contact avec un patient, ou son environnement,
- après retrait des gants,
- après avoir été aux toilettes et avant le repas (lavage des mains au savon doux au préalable).

VACCINE BASICS: HOW WE DEVELOP IMMUNITY

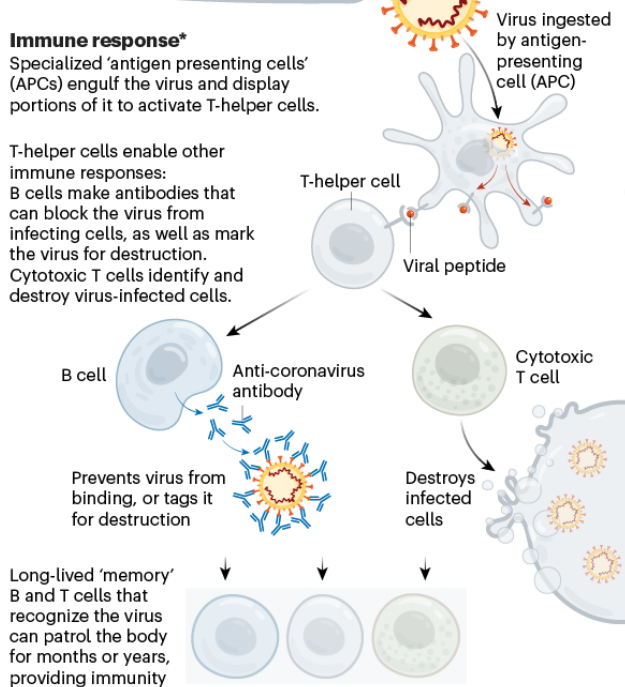
The body's adaptive immune system can learn to recognize new, invading pathogens, such as the coronavirus SARS-CoV-2.



Immune response*

Specialized 'antigen presenting cells' (APCs) engulf the virus and display portions of it to activate T-helper cells.

T-helper cells enable other immune responses:
B cells make antibodies that can block the virus from infecting cells, as well as mark the virus for destruction.
Cytotoxic T cells identify and destroy virus-infected cells.



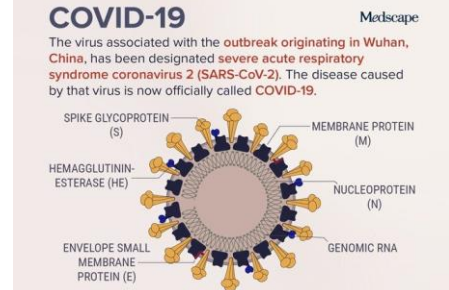
*Simplified

©nature

Pourcentage d'homologie entre SARS COV 2et les différents hCov.

		N	S	SI	S2	SI ^A	RBD
Beta-CoV	SARS-CoV	90	77	66	90	52	73
	MERS-CoV	49	33	24	43	nd	nd
	HCoV-OC43	34	33	25	42	nd	nd
	HCoV-HKU1	34	32	25	40	nd	nd
Alpha-CoV	HCoV-229E	28	30	24	35	nd	nd
	HCoV-NL63	29	28	21	36	nd	nd

SARS-CoV-2 virus particles (yellow) infecting apoptotic cells (green) in a patient sample from NIAID IRF, Fort Detrick, Maryland, NIH, via Flickr



La COVID 19

L'incubation : La durée médiane de l'incubation est de 5,1 jours (IC 95 %, 4,5 à 5,8 jours) identique au SARS de 2003 avec une durée maximale de 12 à 14 jours. La durée de la quarantaine de 14 jours adoptée en France empêche 99% des infections par SARS-CoV2.

He X, estime sur les données relatives à 77 paires de cas que l'infectiosité pourrait démarrer 2,3 jours [0,8-3,0] avant le début des symptômes, avec un pic à 0,7 jours [-0,2 à 2,0 jours]. Ainsi, 44 % des transmissions pourraient être pré-symptomatiques Nat. Med. 10.1038/s41591-020-0869-5. PMID: 32296168

Pédiatrie et femmes enceintes

Les jeunes enfants sont peu concernés (immunité non spécifique avec meilleure défense immunitaire ? Manque/immaturité des récepteurs spécifiques au SARS-CoV-2 ou simplement immunité croisée avec les autres coronavirus bénins que nous avons tous attrapés justement dans l'enfance. L'infection ne semble pas se transmettre par voie verticale de la mère à l'enfant

Pour dix patientes SRAS-CoV-2 tous les prélèvements vaginaux ont été testés négatifs (Liu Qiu et al ; <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa375>)

Par contre, cas de contamination verticale rapporté sur la base d'Ig M uniquement la virologie restant négative Peu probant , les réactions faussement positives sur les tests Ig M étant fréquentes. (?) Lan Dong et coll. : Possible Vertical Transmission of SARS-CoV-2¹¹⁷ March 26, 2020. doi:10.1001/jama.2020.4621

Une grande série de 70 000 patients en Chine a montré que seulement 1% des patients avaient moins de 10 ans

Fuk-Woo Chan et al in CID <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa469> Parmi les quatre nouveau-nés nés de femmes COVID confirmé au troisième trimestre, un seul nouveau-né a eu une RT-PCR pharyngée [positives, les quatre nouveau-nés immédiatement séparés de leur mère Ce qui est en accord avec l'absence de transmission périnatale chez 5 patientes enceintes atteintes du SRAS il reste à déterminer si la transmission intra-utérine . Un seul des quatre nouveau-nés a nécessité un accouchement prématuré par césarienne d'urgence à 30 semaines

L'allaitement peut se poursuivre – surtout en PED. Si la mère est COVid Neg.

Pour les infections en début de grossesse et de potentielles malformations du fœtus: pas d'informations claires à ce jour.

Des premiers résultats pédiatriques en Chine avec une petite cohorte d'une dizaine d'enfants, infectés par leurs parents le plus souvent, et qui ne présentaient que des signes très légers. Aussi un nourrisson de 6 mois parfaitement asymptomatique. (CID du 04 03).

Les enfants peuvent aussi être porteurs +++ pauci ou asymptomatiques avec du SARS CoV -2 dans les selles.

Les pédiatres de plusieurs pays d'Europe parlent d'une forme incomplète de la maladie de Kawasaki, ce d'autant que certains ont des dilatations coronaires » (M3C Necker) et d'inflammation multi-systémique avec des éléments en faveur d'une myocardite » type choc toxique.

A Trousseau, quatorze nourrissons (moins 3 mois) SARS-CoV-2 + rapidement favorable mais quatre avec des signes neurologiques à type d'hypotonie axiale et e somnolence , d'évolution favorable

Gestion des patients aux urgences toujours via le 15

Les **hôpitaux en France renvoient** ceux qui consultent pour une forme mineure ou potentielle et ne font plus faire les tests. Suivi par COVIDOM (très bons retour, mise en place par des médecins de l'AP ; <https://www.covidom.fr/>)
Le virus peut persister des jours (voire des semaines chez des patients immunodéprimés.) au-delà de la fin des signes cliniques. Ces virus persistants sont probablement peu (moins) transmissibles.

Les signes cliniques du COVID 19

Pour les adultes, une dizaine de jour après le contact, le plus souvent cela se manifestera par une toux d'abord non fébrile d'allure type **irritation pharyngée**. Puis apparition d'une fièvre, état grippal (parfois aussi digestif avec diarrhée marquée); **dans 85% des cas surtout chez les jeunes (<60 ans) tout rentre rapidement dans l'ordre en une semaine**. A noter que sur le Diamond Princess ou tous les voyageurs ont été testés, 18% étaient totalement asymptomatiques.

Il faut bien comprendre l'importance de ces cas sans symptôme ou avec très peu de symptômes mais qui peuvent transmettre le virus. Et pendant probablement sur une assez longue période. Leur rôle est sûrement prépondérant dans la circulation du virus .

Les virus des patients pré- ou oligosymptomatique sont bien réplicatifs et infectieux. Sur un suivi de 9 patients l'excrétion pharyngée était très élevée au cours de la 1ère semaine de symptômes (pic à 7×10^8 copies d'ARN à J4 ; SARS CoV 2 étant facilement isolé de la gorge et des poumons, mais pas à des selles malgré une concentration élevée en ARN viral. Aucune virémie ni virurie. La variabilité virale observée entre échantillons de gorge et de poumon du même patient montrent une réplication indépendante entre ces sites. La séroconversion est survenue après 7 jours chez 50% des patients (14 jours tous) mais n'a pas été suivie d'une baisse rapide de la charge virale –(Roman Wölfel et al Nature <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>

Attention : il est possible de retrouver des co infections entre SARS-CoV-2, grippe saisonnière H1N1 surtout, Mycoplasme, Chlamydiae pneumoniae et bien sûr les surinfections classiques broncho pulmonaires.

Les signes cliniques les plus fréquents du Covid-19 sont ceux d'une **infection respiratoire aiguë**, allant de formes pauci-symptomatiques jusqu'à une pneumonie, sans ou avec signes de gravité (syndrome de détresse respiratoire aiguë, voire défaillance multi-viscérale). Toutefois des formes avec symptomatologie digestive, état confusionnel, initialement non fébriles sont souvent au premier plan chez les personnes âgées. Le Conseil national professionnel de gériatrie et la Société française de gériatrie et gérontologie ont confirmé la symptomatologie atypique du Covid-19 chez les sujets âgés, indépendamment des signes respiratoires plus classiques, se traduisant par des signes digestifs (notamment diarrhée), un état confusionnel ou des chutes, une fébricule avec variations de température entre hyper et hypothermie.

En présence d'une **anosmie** sans obstruction nasale et avec une agueusie, le diagnostic de Covid-19 est à considérer comme vraisemblable et ces patients doivent être de facto isolés; ne pas les traiter par corticoïdes inhalés ou per os et les lavages de nez sont contre-indiqués. Idem **Conjonctivite sévère** rapporté comme porte d'entrée probable du virus.

acrosyndromes douloureux

Une multiplication d'aspects d'engelures observées chez les médecins généralistes et les dermatologues incite ces derniers à mettre en lien ces acrosyndromes douloureux confirmés par test PCR. Des patients sont asymptomatiques tandis que d'autres présentent des signes pulmonaires faibles. » Idem quelques cas

d'érythème du visage Deux articles chinois et Taiwanais font état d'urticaire et d'acro-ischémie. Et en Italie, un autre papier, parle d'éruptions généralisées et d'urticaire », signale la Pr Beylot-Barry (QDM 06 04). Ces manifestations dermatologiques apparaîtraient plutôt en fin de maladie (peut être liés à la réponse immune)



lésions distales:
Macule/papule/nodules rouge violacées
ou lésions de type érythème
polymorphe (macules eryth./vésicules)

SARS-CoV-2 & HIV

Chez les patients VIH Les caractéristiques cliniques de COVID-19 semblent être similaires selon une petite série à Barcelonne

SARS-CoV-2 & Transplantation : 36 transplantés rénaux SARS-CoV-2 + médiane 60 ans Arrêt de antimétabolites chez 86% et du tacrolimus chez les 6pts les plus sévères. Six ont reçu un inhibiteur CCR5 r et 2 pts du tocilizumab. Mortalité 28% de DC a 3 semaines Akalin et al NEJM 24 04

Les complications lors de COVID 19

Dans une analyse de 45 000 COVID-19 en Chine, la mortalité était de 0,9 % pour les patients sans comorbidité documentée. Elle serait de moitié en Allemagne ; Comme aucun chiffre n'est fiable quant à la prévalence...

Dans 15 % des cas, les situations peuvent s'aggraver particulièrement en fin de première semaine avec (difficulté respiratoire voire dans 5 à 10% des cas prendre une forme sévère. Les cas sévères ($SpO_2 < 90\%$) sont hospitalisés en réanimation (taux de décès > 20% après 80 ans).

Données de W. Guan, et coll (N ENGL J MED) sur 1099 patients en Covid-19 confirmés et hospitalisés en Chine en janvier 2020: âge médian des patients: 47 ans, 42% sont des femmes; 67/1099 patients (6,1%) ont présenté une forme grave avec soit une admission en soins intensifs et/ou ventilation mécanique et/ou mort. Les symptômes les plus courants sont la fièvre (43,8% à l'admission et 88,7% pendant l'hospitalisation) et la toux (67,8%). La diarrhée était rare (3,8%). La période d'incubation médiane était de 4 jours (plage interquartile, 2 à 7). À l'admission, on retrouve des opacités en verre dépoli à la tomodensitométrie thoracique pour 56,4% des patients. La lymphocytopenie était présente chez 83,2% des patients à l'admission. Cette lymphopénie doit être soulignée d'autant qu'avec les élévations de la CRP et des marqueurs de l'inflammation, il s'agit d'un profil atypique de primo infection virale.

Les soignants sont aux premières loges avec fort risque d'être contaminés et parmi eux 40% sont des médecins.

ROle (?) du le récepteur nicotinique : le taux de fumeurs était de 4,4% parmi les cas de COVID-19 hospitalisés et de 25,4% dans la population générale française. L'acétylcholine exerce un effet régulateur de l'inflammation par son action sur le récepteur nicotinique macrophagique diminuant le risque d'hyperactivation macrophagique et sécrétion de cytokines pro-inflammatoires. Cette altération du récepteur nicotinique serait à l'origine de l'état résiduel inflammatoire décrit au cours de l'obésité et du diabète, qui pourrait être amplifié en cas d'infection par le SARS-CoV-2. Cela pourrait expliquer pourquoi ces deux comorbidités sont si fréquemment retrouvées au cours des cas graves de COVID-19.

HTA : sur 170 patients décédés en janvier, 50% souffraient d'hypertension. Pour mémoire, les récepteurs de l'ACE2 (**enzyme de conversion 2**) sont le point d'entrée dans les cellules humaines du SRAS-CoV et le SRAS-CoV-2.

L'ACE2 est une exopeptidase transformant l'Angiotensine I en Angiotensine. L'ACE2 s'exprime surtout dans certaines cellules du cœur et des reins. L'HTA est le facteur n°1, suivie des problèmes cardiaques, diabète etc.. et bien sur les conditions de réa des insuffisants respiratoires chroniques, obèses etc.. .

Kuba K et al postulent que **la stimulation de l'ACE2 pourrait être un moyen d'atténuer les lésions pulmonaires aiguës**, y compris ceux vus avec SDRA.

Zhang P : rétrospective : 3.661 patients 18-74 ans dont 188 étaient traités par IEC ou ARAII (moyenne d'âge 64 ans, 53,2% d'hommes et associés à un risque inférieur de décès toutes causes confondues (HRa : 0,29) 10.1161/CIRCRESAHA.120.317134. PMID: 32302265

Les facteurs prédictifs de mortalité sur 150 cas de Wuhan : taux élevé de ferritine (moyenne de 1297,6 ng/mL chez les patients décédés versus 614,0 ng/mL chez les survivants ; $p < 0,001$) et d'IL-6 ($p < 0,0001$). **La mortalité pourrait être due à l'hyper-inflammation d'origine virale**. Comme lors des pandémies précédentes (SARS et MERS-Cov), les corticostéroïdes ne sont pas recommandés en routine et pourraient aggraver les lésions pulmonaires.

20 % de patients souffrent d'un **dommage microvasculaires** de par la présence des récepteurs au niveau du myocarde et des myocardites peuvent survenir en dehors de l'atteinte pulmonaire . La pro-thrombogénèse est également altérée avec des syndromes coronaires conduisant à anticoaguler lors des D-dimères très élevés. (JP Collet, P-S) . **Surveillance TnC élevée chez 1 patient sur 5 avec risque ++**

Embolie pulmonaire, expérience Lilloise : sur les 107 patients en soins intensifs 20,6 % souffraient d'embolie pulmonaire. À titre de comparaison, le taux d'embolie pulmonaire était de 7,5 % pour les gripes.

Attention aux AVC même si < 50 ans

Un sous-groupe de patients peuvent présenter un orage cytokinique, réaction immunitaire potentiellement fatale consistant en une réaction entre cytokines et leucocytes. Une lymphohistiocytose hémophagocytaire secondaire avec hypercytokinémie et défaillance multiviscérale (comme parfois déclenchée par des infections virales) avec : fièvre constante, cytopénie et hyperferritinémie. L'atteinte pulmonaire y compris le SDRA survient chez environ 50 % des patients. Forte létalité. Souvent associée à la prise antérieure d'ibuprofène.

Les patients graves doivent être soumis à un dépistage de l'hyper-inflammation : hyperferritinémie, thrombopénie, vitesse de sédimentation afin **d'identifier le sous-groupe de patients chez lesquels une immunosuppression pourrait réduire la mortalité**.

Interet du tocilizumab et des antagonistes du récepteur IL-6. Essais chinois rétrospective et essais internationaux en cours ; Genentech lance un essai phase 3 sur le tocilizumab (Actemra) . Regeneron et Sanofi, mènent des études sur un autre inhibiteur de l'IL-6, le Kevzara® (sarilumab)

HLA et Covid Parmi 145 génotypes de HLA étudiés, les HLA-B*46 : 01, auraient moins de peptides de liaison pour le SARS-CoV-2e pourraient ainsi être associés à une forme sévère de Covid-19. Une étude de 2003 avait abouti à un résultat similaire dans le SARS-CoV.

Les allèles HLA-B *15:03, seraient au contraire en capacité de présenter des peptides SARS-CoV-2 hautement conservés partagés entre les coronavirus humains courants et ces allèles pourraient permettre une immunité cellulaire croisée (Nguyen et al ; J. Virol. doi:10.1128/JVI.00510-20)

Pas de relaps , pas de réinfection documentée de SARS Cov 2

Expérimentation chez les macaques rhésus : réplication virale principalement dans le nez, le pharynx, les poumons et les intestins, ainsi qu'une pneumonie interstitielle modérée 7 jours après l'infection. Après contrôle clinique et apparition des anticorps, nouveau challenge avec la même dose SARS-CoV-2 : rien , aucune réplication observés dans les compartiment sus cités. Les singes avec réexposition n'ont montré aucune récurrence de COVID-19.

Par contre la longue persistance de la sécrétion allée avec les charges virales de plus en plus faibles sous 6 log et la qualité des prélèvements dépendant des aléa de la loi de Poisson expliquent des PCR faussement négatives retrouvées positives par la suite ; <https://doi.org/10.1101/2020.03.13.990226>

Hypothèses physiopathologiques

L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2, ou ACE2 (de l'anglais Angiotensin-Converting Enzyme 2), est une enzyme liée à la face externe des membranes plasmiques de cellules. La mortalité COVID-19 peut être liée à ces ACE2, récepteurs fonctionnels des "spikes" du SARS-CoV-2. La protéine S se lie à ACE2 qui est une peptidase liée à la membrane cellulaire et particulièrement exprimée dans le cœur, les poumons, les reins et le tractus gastro-intestinal

Une surexpression de l'ACE2 faciliterait donc l'entrée et la réplication virales dans les pneumocytes et macrophages d'où la fréquence de SDRA du SRAS et de COVID-19. Dans le même temps, les manifestations extrapulmonaires de COVID-19 comme nausées vomissements ou les lésions cardiaques et myocardite fulminante sont aussi rapportées dans COVID-19

Dans une vision simplifiée, le système rénine angiotensine (RAS) l'ACE2 est responsable de la conversion de l'angiotensine I en angiotensine II principalement responsable de la vasoconstriction systémique et de la stimulation de la libération d'aldostérone. Inversement l'ACE2 régule la cascade RAS en fournissant un rétro contrôle inhibiteur sur Ang II.

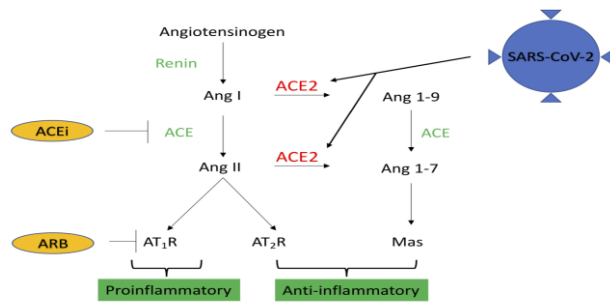
Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACEi) et les bloqueurs des récepteurs de l'angiotensine (ARB) vont donc diminuer la production l'angiotensine mais conduisent indirectement à une augmentation de l'expression de l'ACE2. D'autres médicaments, y compris les thiazolidinediones ou l'ibuprofène, peuvent également augmenter les niveaux d'ACE2 expliquant l'association observée lors des cas de COVID-19 sévères.

Le rôle putatif du ACE2 et des iACE2 et ARB dans la physiopathologie des complications :

Les différences au niveau génétique de l'expression de l'ACE2 dans la population peuvent prédisposer au développement de maladies cardiovasculaires et à la gravité d'une infection par le SRAS-CoV-2. De plus, le gène ACE2 est lié à l'X expliquerait une partie de l'effet protecteur du genre féminin observé lors du COVID-19.

Deuxièmement, soit la pathologie cardiovasculaire elle-même, soit le blocage pharmacologique du système rénine angiotensine utilisé dans la maladie cardiovasculaire peut augmenter les niveaux d'ACE2 augmentant la susceptibilité au SRAS-CoV-2 dans certains organes comme les poumons et le cœur. Cette augmentation des taux d'ACE2 est retrouvée dans de multiples maladies cardiovasculaires et les comorbidités qui y sont liées, comme le diabète et l'hypertension. Paradoxalement, le blocage pharmacologique du système rénine angiotensine a également été associé à une augmentation de l'expression ACE2 dans des modèles murins ou chronique. Il n'est pas clair à cette heure si le blocage du système rénine angiotensine améliorerait ou aggraverait la gravité de l'infection par COVID-19 chez les patients atteints de maladie cardiovasculaire (MCV).

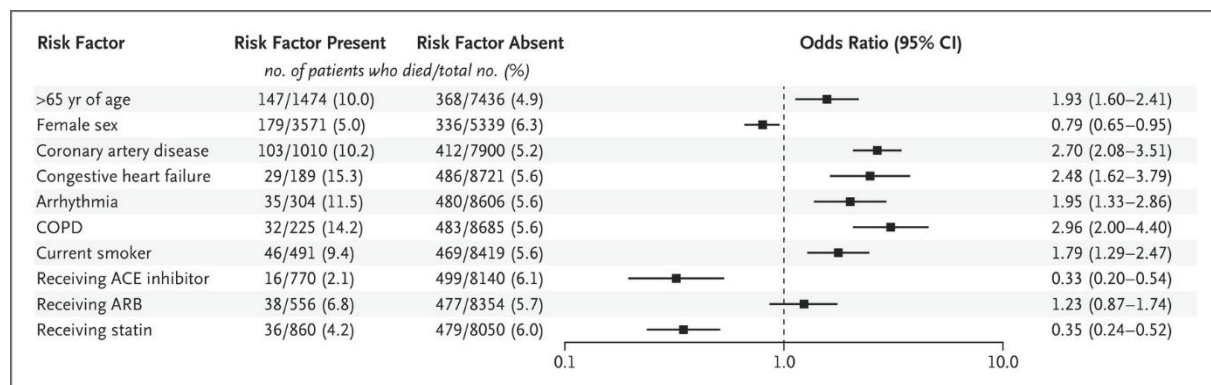
Enfin, SRAS-CoV-2 pourrait surtout réduire la régulation de l'ACE2 chez les patients atteints d'une MCV préexistante. D'après les données du SRAS-CoV 2003, l'interaction avec l'ACE2 pourrait être importante et délétère. Des modèles animaux CoV-SARS-CoV ont montré une baisse d'expression de l'ACE2, générant une réponse inflammatoire avec lésion pulmonaire aiguë et une contractilité cardiaque altérée



SRAS-CoV-2 utilise l'ACE2 comme récepteur fonctionnel. L'Ang II et le récepteur AT1 (AT1R) ont des effets pro-inflammatoires qui peuvent entraîner des lésions pulmonaires aiguës ou une myocardite, tandis que les récepteurs AT2 et Mas ont des effets anti-inflammatoires. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) et les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine (ARA) inhibent l'axe Ang II/AT1R, qui peut être anti-

Au total soit le blocage du système rénine angiotensine diminue l'activité pro-inflammatoire de l'Angiotensine II, diminuant le risque de SDRA, soit ce blocage augmente l'expression de l'ACE2, favorisant la virulence du SRAS-CoV-2 et l'évolution vers le SDRA, la myocardite et la mort. Des études pharmaco épidémiologiques doivent être réalisées rapidement par des essais cliniques. Les patients sous IEC ou les ARA ne doivent pas modifier leur traitement pour l'heure. Et la communauté doit veiller – s'il y avait un effet positif – pour éviter un effet "chloroquine" ...

Et nos traitements Ace et ARB pour les hypertendus ?? Que faire



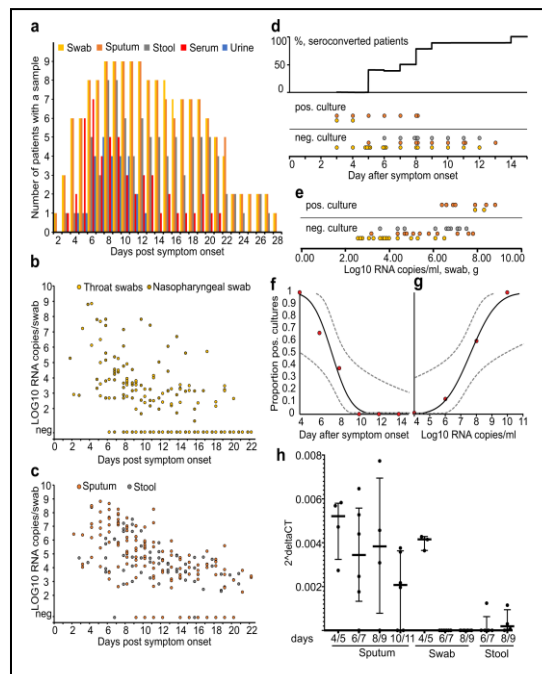
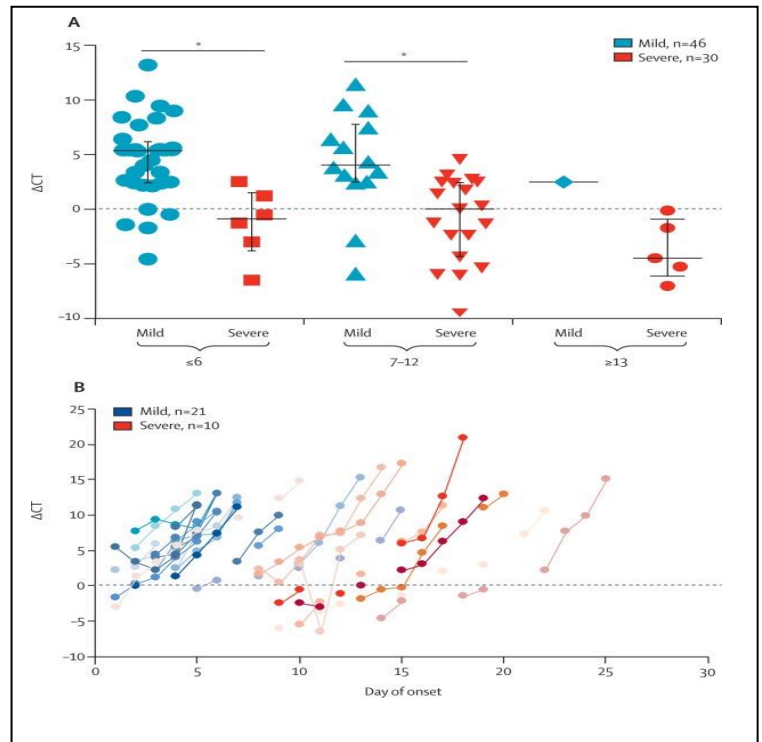
Trois papiers dans le NEJM du 02/05 concluent au maintien des sartans voire comme celui de Merha ci-dessus à leur bénéfice en terme de réduction de mortalité ; ce qui n'est pas retourné par les autres auteurs.... A suivre https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMe2012924?query=C19&cid=DM91174_NEJM_Registered_Users_and_InActive&bid=190290004

L'importance de la charge virale

La charge virale SARS-CoV-2 est plus élevée et maintenue de façon plus prolongée chez les patients présentant une forme grave de COVID-19 que chez ceux ayant une forme légère. (Liu Y, *Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. Lancet Infect Dis. 2020 Mar 19 [Epub ahead of print]. doi: 10.1016*). La RT-PCR à partir des prélèvements nasopharyngés chez 46 cas légers vs 30 cas en détresse respiratoire a montré que la charge virale dans les formes graves de la maladie était environ 60 fois plus élevée que dans les formes légères. 90% des patients présentant des formes légères présentaient une clairance virale à J10.

Dynamique virale COVID-19 léger et sévère : (A) Valeurs CT (CT sample – CT témoin neg) médiane, quartile 1 et 3 (B) Suivi des CT Pour rappel le CT est inverse à la quantité théorique de virus

Une autre étude à Hong Kong (Kai-Wang To, *LID (20)30196-1*) montre que la charge virale (valeur médiane) dans la salive de l'oropharynx postérieure et les autres prélèvements respiratoires est de 5,2 log₁₀ copies par ml (4,1–7,0) au début des signes baisse avec le temps, l'ARN viral pouvant être détectable jusqu'à 25 jours. L'âge et la gravité de



l'infection sont corrélés la charge virale. A la différence du SARS-CoV-1 et MERS-CoV, le SARS-CoV-2 présente une charge virale maximale au moment où la maladie commence à s'exprimer cliniquement (alors que, dans le cas des deux autres viroses, la charge virale est maximale entre le 7^{ème} et le 10^{ème} jour). Mais des biais de recrutement clinique sont possibles, les outils et l'organisation actuel permettant une mise en évidence plus précoce des cas

Caractéristiques de l'excrétion virale dans les échantillons (données agrégés : B, ARN viral dans les voies respiratoires supérieures; C, ARN virales expectorations et de selles. D, seroconversion & isolement /symptoms; E, isolement du virus et charge virale. F et G, isolement du virus courbes probit (règle dose-réponse). H, transcrits d'ARN viral subgénomique en relation avec ARN viral. Les points représentent les valeurs moyennes des données RT-PCR obtenues à partir de au moins deux expériences indépendantes

Pour un taux d'isolement du SARS-CoV-2 inférieur à 5%, il faut 9,78 jours (IC à 95%: 8,45-21,78) et 6,51 Log₁₀ ARN / ml (IC à

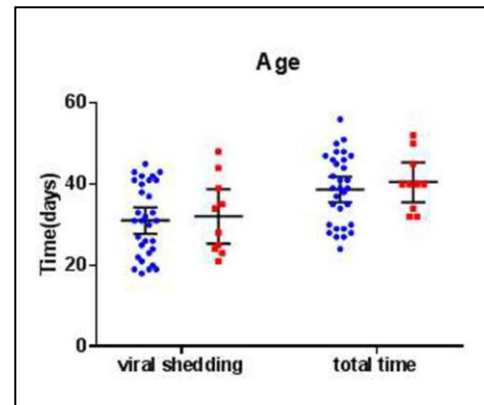
95%: -4,11-5,40) Roman Wölfel, *Nature* <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x> (2020).

L'analyse de 48 cas de COVID-19 montre que l'ARNémie n'était retrouvée que dans le groupe des patients gravement atteints. En outre, le niveau de cytokine inflammatoire IL-6 chez ces patients était augmenté de manière significative de près de 10 fois par rapport aux autres patients. Ce niveau élevé d'IL-6 est étroitement corrélé à la détection d'une ARNémie positive (+R = 0,902) Xiaohua Chen et in CID . <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa449>

- **Durée de l'excrétion virale chez les convalescents d'un COVID sévère :**

22 hommes 19 femmes âge médian 58, ans (IQR: 48,0 62,0) séparés en <65 ans (n = 31, 75,6%) > 65 ans. La durée médiane de l'excrétion virale est de 31 jours (IQR: 24,0 40,0) jours après le début de la maladie.

La durée la plus longue était de 48 jours. Pas de différence significative avec le temps d'excrétion virale entre hommes et femmes ni > ou < 65 ans



La réponse anticorps

L'essentiel par Quan-Xin Long et al in Nat Medicine 29 04 :

Réaction croisée : observée avec l'ag nucléocapside mais pas la sous unité S1 du SRAS-Cov-1

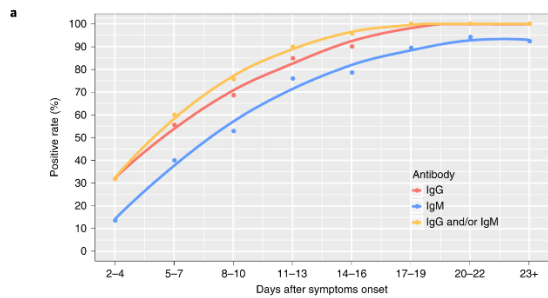
- La séroconversion a lieu 13 j (médian) après le début des symptômes.

- A 19 j 100% des pts ont des IgG et à 20 à 22j 94% gardent des des IgM

- Le taux d'AC augmente pendant les trois 1ères semaines puis les IgM ont tendance à baisser

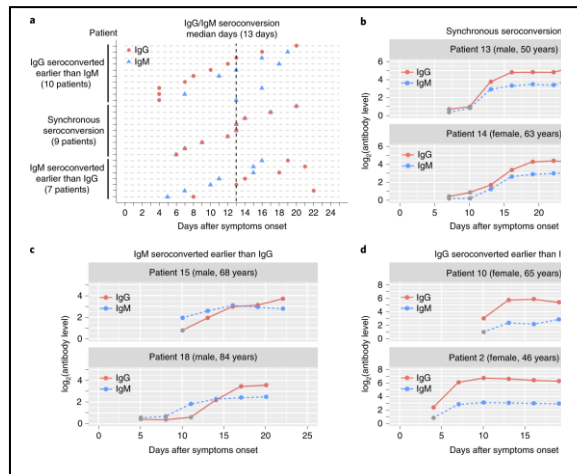
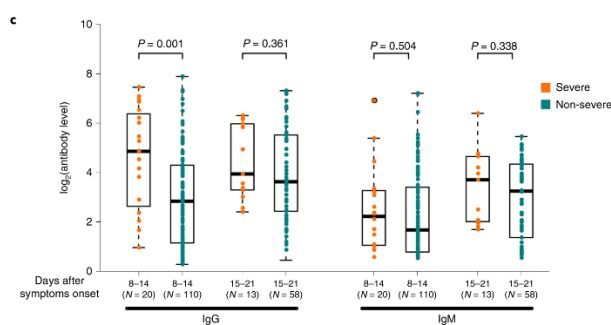
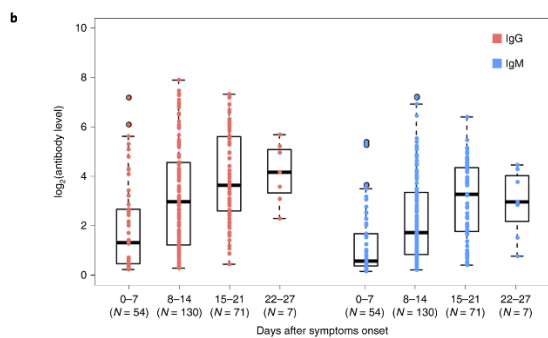
- Le taux d'IgG pendant les deux 1eres semaines est plus élevé en cas de formes sévères

Dans un cluster de 164 contacts proches, 16 avec PCR + et 7 avec PCR – étaient + en IgG et/ou IgM dont 10 contacts p roches asymptomatiques : intérêt pour mieux tracer les chaines de contaminations



Days	2-4 (N=22)	5-7 (N=45)	8-10 (N=70)	11-13 (N=79)	14-16 (N=70)	17-19 (N=47)	20-22 (N=17)	23+ (N=13)
IgG	7	25	48	67	63	47	17	13
IgM	3	18	37	60	55	42	16	12
IgG and/or IgM	7	27	53	71	67	47	17	13

* Number of serum samples with positive results

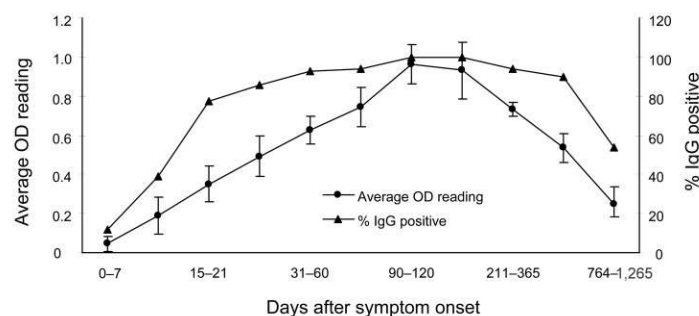


a, Seroconversion type of 26 patients who were initially seronegative during the observation period. The days of seroconversion for each patient are plotted. **b-d**, Six representative examples of the three seroconversion type: synchronous seroconversion of IgG and IgM (**b**), IgM seroconversion earlier than that of IgG (**c**) and IgM seroconversion later than that of IgG (**d**).

Il paraît clairement que la réponse anticorps est liée à la gravité de l'infection. Donc que se passe-t-il lors des infections a ou pauci symptomatiques ? Une réponse locale peut être suffisante ? De fait elle doit l'être puisque non symptomatique ; Une réponse anamnestic sera-t-elle ensuite possible ???

Okba et al. Emerg Infect Dis. 2020 Apr 8;26(7). doi: 10.3201/eid2607.200841.

Pour mémoire lors du SARS -1 les anticorps ont été largement produits en temps et en heure et bien persistant. Une positivité jusqu'à ce jour (17 ans). Peu d'étude d'intérêts sur leur persistance comme pouvoir neutralisant, immunité cellulaire etc.. Et aussi une surreprésentation des cas symptomatiques voir sévère dans le SARS.



Mary E. Wilson a fait une synthèse des travaux sur la sérologie au 03 Avril en analysant les publications de Guo L et al. Clin Infect Dis 2020 21 mars, de Zhao J et al. Clin Infect Dis 2020 28 mars et de Li Z et al. J Med Virol 2020 27 février. J'y rajoute mes propres commentaires (FS) et d'autres car beaucoup de questions encore.

1- Guo et al ont étudié la cinétique de réponse des IgM, IgA et IgG par un ELISA basé sur la nucléocapside SRAS-CoV-2 sur 208 plasma provenant de 82 cas confirmés et 58 cas probables de COVID-19. Les anticorps sont retrouvés dès le premier jour suivant l'apparition des symptômes.

2-

FS : ce qui ne manque pas d'être surprenant dans notre perception des primo infections en virologie et vaccinologie, les anticorps apparaissant en général la semaine suivant les symptômes. On pourrait penser que les inclusions dans l'étude ne sont pas carrées ou que la physiopathologie du Covid 19 doit être mieux comprises au stade précoce.

Les IgM sont plus souvent détectées que l'ARN dès 5,5 jour maladie. La combinaison de l'ELISA IgM et de PCR détecte 98,6 % des cas contre 51,9 % avec une seule PCR.

FS : encore une fois on est surpris par ces résultats de précocité de réponse des IgM sachant que l'on attend déjà avant une réponse Ig A sécrétoire. La sensibilité / prélèvements des PCR de l'équipe est peut être insuffisante ?

Aucune réactivité croisée n'a été trouvée avec les coronavirus courants. En groupe familial, les contacts négatifs en PCR avaient un test sérologique positif, confirmant la présence d'anticorps dans l'infection asymptomatique.

FS : L'absence de titrage ne permet pas de mieux connaître la réponse chez les asymptomatiques éléments essentiel pour le déconfinement.

3- Li et al : un test par immunochromatographie IgM et IgG du sang capillaire a été testé dans six provinces sur 397 patients dont la COVID-19 par PCR et sur 128 négatifs : La sensibilité globale était de 88,7 % et la spécificité de 90,6 %. A noter que plusieurs auteurs étaient affiliés à la société Jiangsu Medomics Medical Technology Co., Ltd., Nanjing qui commercialise ce test.

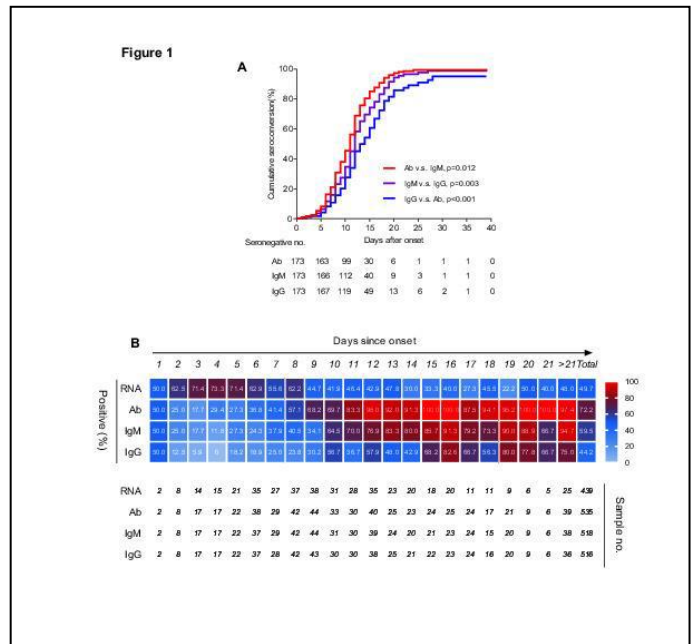
FS : ces résultats sont très inquiétant car la sensibilité et la spécificité ne sont pas suffisantes. Et les lectures de ces tests liée à la subjectivité. Comme le montrent nos premières lectures sur ce type de test

4- Zhao et al ont recherché les anticorps totaux, les IgM et les IgG chez 173 patients (âge médian, 48 ans) atteints de COVID-19 confirmés par PCR à Shenzhen par kits ELISA Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co, Ltd, Beijing, Chine.

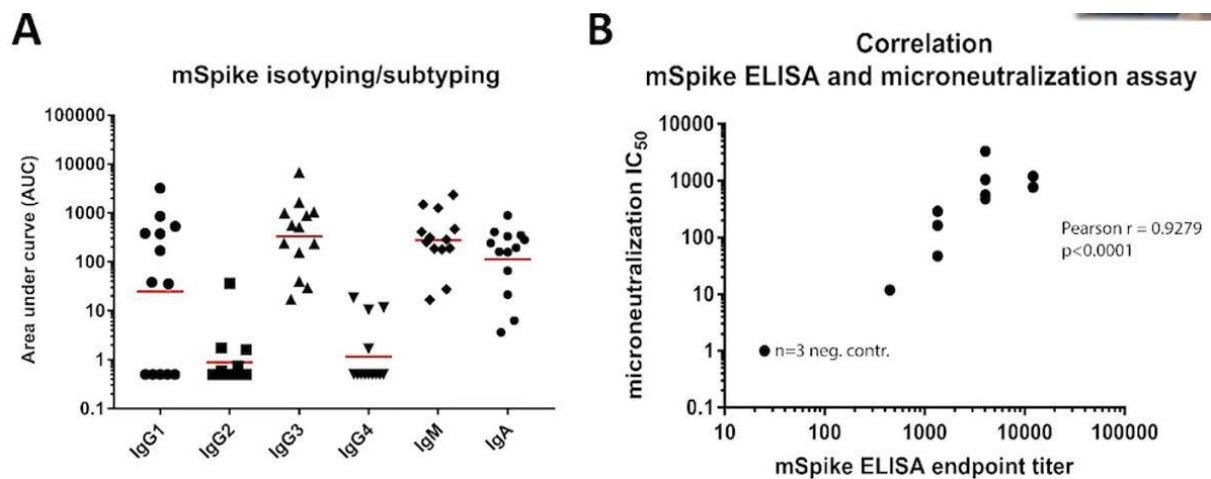
Au cours des 7 premiers jours suivant le début de la maladie, les taux de positivité étaient de 66,7 % pour la PCR et de 38,3 % pour les d'anticorps. Au cours de la deuxième semaine, les taux étaient de 54,0 % et de 89,6 % pour les tests d'anticorps. L'utilisation combinée de la PCR et d'anticorps améliore la positivité à travers les différentes phases de la maladie. L'augmentation des taux d'anticorps n'a pas été associée à la clairance de l'ARN, y compris chez trois patients atteints de forme grave. Une forte corrélation est constatée entre la gravité clinique et le titre d'anticorps plus de deux semaines après le début de la maladie.

La présence d'anticorps est < à 40 % la semaine suivant l'apparition des signes pour atteindre 100 % (Ab), 94,3 % (IgM) et 79,8 % (IgG) au 15e jour. La détectabilité de l'ARN passe de 66,7 % (58/87) dans les échantillons prélevés avant le 7e jour à 45,5 % (25/55) après le 15e, 16e et 19e jours. La combinaison ARN + anticorps améliore la sensibilité du diagnostic même dans la phase précoce d'une semaine. De plus, un titre d'Ac plus élevé est indépendamment associé à la gravité clinique

FS : ce qui pourrait soulever la question d'anticorps facilitants ?



- 5- Dans l'étude de Hong Kong (Kai-Wang To, LID (20)30196-1) combinant cinétique de charge virale et sérologie, au 14eme jour après le début des signes les taux de + Ac sont anti-NP IgG (n=15) : 94 % ; (2) anti-NP IgM (n=14) : 88 % ; (3) anti-RBD IgG (n=16) : 100 % ; (4) anti-RBD IgM (n=15) : 94 %. Les taux d'anticorps IgG anti-SARS-CoV-2-NP ou anti-SARS-CoV-2-RBD sont corrélés aux titres des anticorps neutralisants ($R^2 > 0,9$).



On a déjà une bonne corrélation entre EIA dirigée sur les protéines recombinantes du spike et les ACN Amanat et al. medRxiv doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.17.20037713>

Jiuxin Qu *Lancet Infect Dis*. 2020 Mar 23 doi: [10.1016/S1473-3099\(20\)30196-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30196-1) : Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses : 23 pts (62 ans [extrêmes 37–75]). La charge virale médiane dans la salive oropharyngée postérieure était de $5 \cdot 2 \log_{10}$ copies par ml (IQR $4 \cdot 1-7 \cdot 0$ plus élevée au cours de la première semaine après symptômes et diminue avec le temps (pente $-0 \cdot 15$, IC à 95% $-0 \cdot 19$ à $-0 \cdot 11$; $R^2 = 0 \cdot 71$). Chez un patient, l'ARN viral a été détecté 25 jours après l'apparition des symptômes. L'âge est corrélé à une charge virale plus élevée. Pour 16 patients avec des échantillons de sérum disponibles 14 jours ou plus après le début des symptômes, les taux de séropositivité étaient de 94% pour les IgG anti-NP (n = 15), 88% pour les IgM anti-NP (n = 14), 100% pour les anti-RBD IgG (n = 16), et 94% pour anti-RBD IgM (n = 15). Les niveaux d'IgG anti-SARS-CoV-2-NP ou anti-SARS-CoV-2-RBD étaient corrélés avec le titre de neutralisation du virus ($R^2 > 0 \cdot 9$).

Anticorps neutralisants : sur lignée 293T/ACE 2 et pseudotypes de SARS-CoV-2 PsV et de SARS CoV-1 PsV

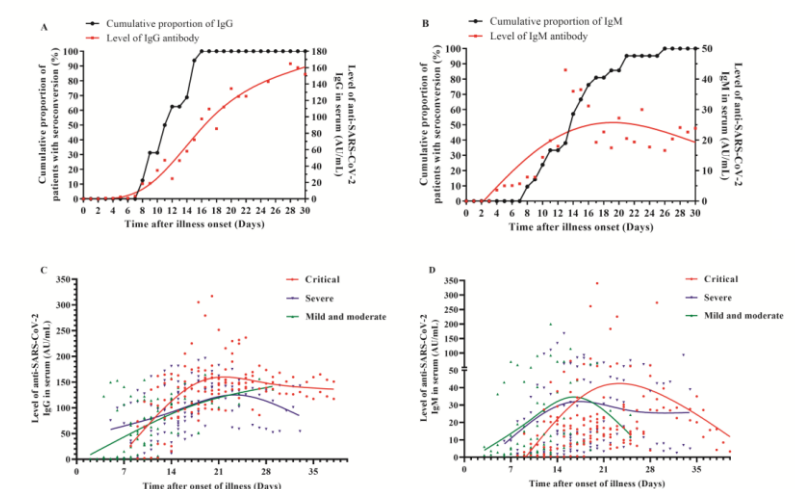
175 patients adultes guéris, infection bénigne ou moyenne : anticorps neutralisants dirigés contre la Spike spécifiques du SARS-CoV-2, simultanément, entre le 10^{ème} jour et le 15^{ème} jour de l'infection. 30 % avaient des taux très faibles et 10 d'entre eux des taux pratiquement indétectables. Pas de réaction croisée avec le pseudovirus SARS Cov 1.

Deux semaines après la sortie, l'analyse de 47 plasmas ne montrait pas de modifications significatives des taux des anticorps neutralisants, comparés aux taux de la sortie L'âge des patients guéris du Covid-19 et le titre des anticorps neutralisants spécifiques du SARS-CoV-2 étaient corrélés négativement au nombre des lymphocytes, et positivement au taux de CRP lors de l'admission

Fan Wu et coll. : medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365>.

Jiuxin Qu1 et al in CID établi le profil chez les patients critiques des réponses sérologiques vs nucléocapside (N) et (S) La majorité des patients ont développé de fortes réponses anticorps entre 17 et 23 jours après le début de la maladie. Des réponses anticorps retardées, mais plus fortes, ont été observées chez les patients en phase critique.

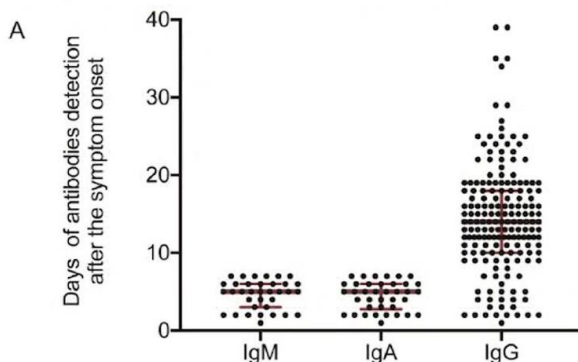
<https://academic.oup.com/cid/advance-article-abstract/doi/10.1093/cid/ciaa489/5825506>



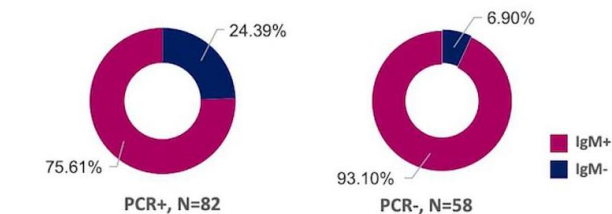
IgG et IgM contre la protéine de la nucléocapside et glycoprotéine S (A) % de séroconversion et niveau des IgG de 16 patients. (B) % de séroconversion et niveau des IgM de 21 patients. (C) IgG chez les patients atteints de COVID-19 légers et modérés, graves et critiques (D) IgM anti-SARS-CoV-2 chez les patients atteints de COVID-19 légers et modérés, graves et critiques

Et les IG A ????

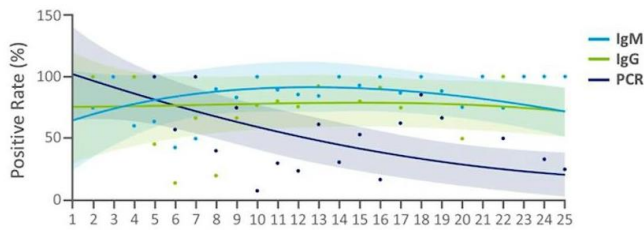
délaissés sauf par EUroimmun car les tests sont mal maîtrisés : manque d'anti Ig A ?? de fait peu connue. Les fabricants préfèrent les Ig M déjà pas faciles à maîtriser en test EIA



Au total pour la réponse anticorps : leur recherche est complémentaire à celle de la PCR : de fait on réinvente l'eau chaude et les études bien conduites montrent :
 - une relation à l'exposition antigénique, les formes graves étant plus immunogènes
 - une absence de données nouvelles des cinétiques : - une positivité à 5 et 13 jours pour les Ig M et G soit tout à fait classique
 - et une complémentarité avec les PCR pour le diagnostic



Courtesy of John Hakett Abbott Chicago



Days After Onset	n	RNA		Ab		IgM		IgG		RNA+Ab	
		n (+)	Sensitivity%	n (+)	Sensitivity%	n (+)	Sensitivity%	n (+)	Sensitivity%	n (+)	Sensitivity%
Total	173	112	67.1	161	93.1	143	82.7	112	64.7	172	99.4
1-7	94	58	66.7	36	38.3	27	28.7	18	19.1	74	78.7
8-14	135	67	54	121	89.6	99	73.3	73	54.1	131	97
15-39	90	25	45.5	90	100	83	94.3	71	79.8	90	100

Zhao et al. Clin Inf Dis (aop) 2020. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.20030189>

Le diagnostic virologique de l'infection

AVERTISSEMENT : Il existe près de 700 trousse de diagnostic diverses et variées à ce jour à la vente la plupart sont produites en Chine ou ASE comme la quasi-totalité des tests rapides unitaires. Même les tests fabriqués en occident utilisent pour la majorité des protéines recombinantes produites en Chine . Ces réactifs de diagnostic sont des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro et relèvent sur le plan réglementaire de la directive européenne 98/79/CE, c'est-à-dire qu'ils peuvent être mis sur le marché européen sous l'entière responsabilité de leurs fabricants qui se proposent CE sans évaluation externe .

Les réactifs RT-PCR sont enregistrés à la 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. A cette heure pas d'information sur l'enregistrement des TROD et EIA

HAS le 16 avril 20

La seule technique de diagnostic biologique du COVID-19 recommandée à ce jour est le test moléculaire par RT-PCR permettant la détection du génome du coronavirus SARS-CoV-2.

→ Les tests sérologiques ne sont pas recommandés dans le cadre du diagnostic précoce de l'infection COVID-19 lors de la première semaine suivant l'apparition des symptômes.

→ Les tests sérologiques ne permettent pas de statuer sur la contagiosité de la personne.

→ Les tests sérologiques permettent uniquement de déterminer si une personne a produit des anticorps en réponse à une infection par le virus SARS-CoV-2.

→ La cinétique de production des anticorps contre le virus est encore aujourd'hui mal caractérisée principalement chez les patients asymptomatiques. La durée de protection éventuelle est également mal connue.

→ Il est primordial que les tests sérologiques puissent être validés sur leurs premières performances analytiques et cliniques dès aujourd'hui avant leur achat et leur utilisation en routine

→ C'est pourquoi, la HAS propose un cahier des charges qui détaille des critères de qualité et d'exigence vis-à-vis de l'ensemble des tests sérologiques détectant les anticorps spécifiques dirigés contre le SARS-CoV-2 afin de faciliter leur développement et leur évaluation.

→ La HAS considère que les valeurs seuils minimales sont estimées à 98% pour la spécificité clinique et à 90% ou 95% selon l'usage du test pour la sensibilité clinique.

→ La HAS recommande de disposer des résultats des évaluations de performances menées sur la base des éléments du présent cahier des charges préalablement à tout achat et utilisation de tests sérologiques.

→ La stratégie d'utilisation de ces tests sera précisée dans un prochain avis.

Les données de sensibilité et spécificité avancées par le fabricant ne peuvent être validées que par une évaluation externe . A peine plus d'une dizaine ont la capacité de répondre aux attentes que ce soit la détection de l'ARN ou la détection des anticorps. **La liste des tests disponibles est vertigineuse et ne répond à aucune logique de qualité. LE site FIND tient à jour ce listing**

VOIR <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/> trousse de détection de l'ARN

VOIR https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/?section=immunoassays#diag_tab trousse de recherche des anticorps ou des antigènes.

Le dépistage en France : une politique encore obscure :

Mise en place du coronadrive dans le 17ème et à l'Hotel Dieu pour tester les personnels de santé à priori avec envoi au Cerba

Plateforme COVID Ile de FRANCE : **Le programme de dépistage massif** de diagnostic du COVID 19 par RT-PCR

La DGS met en place cette semaine 30 robots pipeteurs venant de Chine sur tout le territoire . Dans ce cadre, l'AP-HP ouvre la plateforme régionale IDF de dépistage COVID en capacité de produire 4000 tests par jours sur le site Broussais. Son déploiement a lieu actuellement pour une mise en fonctionnement fin avril . Fonctionnerait jusqu'à fin juillet/septembre ? puis une période pouvant durer jusqu'à

Le démarrage opérationnel aurait du avoir lieu dès les 28 avril.

Il s'agit de PCR uniquement et il va falloir organiser le chantier de mise en place avec des techniciens 24/24 7/7. Ouvert à la population générale. Pour rattraper notre retard . Pour l'heure on cherche à engager des techniciens.

Les test qPCR seront de moins en moins demandés en l'IDF alors que les capacités avec les plateformes du gouvernement augmenteront de manière décalée et monteront en puissance dans les semaines à venir. Par contre les demandes de recherche anticorps vont exploser dans le contexte malsain de tests rapides ou elisa non validés circulant tout azimut et dont nos premières expériences sont loin d'être concluantes. Quant aux tests « antigènes » venus de Chine sur l'écouvillon et certainement à ce stade non plus sur le pharynx mais la gorge antérieure voire la salive...cela risque d'être calamiteux en terme de sensibilité. **Sauf bonne nouvelles d'industriels compétents qui développent des reels test de detection des antigens idéal pour le diagnostic et le suivi. En effet l'antigène viral renseigne sur la vitalité virale ce que ne fait pas l'ARN qui ne peut être qu'un squelette de l'infection.**

Attention : un dépistage généralisé ne peut s'entendre qu'avec des outils adaptés à savoir des tests Elisa réalisés sur des automates à haut débit capables de gérer plusieurs milliers de tubes par jour. A ce jour, seuls au monde, Abbott, Siemens, Roche, et Beckman peuvent répondre à ces enjeux de qualité sensibilité, spécificité et haut débit. Il ne faut rien espérer avant fin avril pour Abbott (haut débit) et DiaSorin (en complément). Les tests actuellement disponibles ne sont pas validés ; peu de tests Elisa tous chinois ou dérivées de protéines produites en Asie et non validés. Ces tests rapides sont très peu sensibles et in fine couteux

D'autre part la réponse immune attendue risque d'être faible chez les patients a- ou pauci symptomatique. Elle pourrait aussi d'être de courte durée. Donc des outils peu adaptés en terme de qualité et de débit qui risquent de jeter un peu plus de confusion ...Soyez prudent et pas espoir trop rapide

Le projet EpiCOV par l'INSERM doit inclure 200 000 personnes de plus de 15 ans, sur l'ensemble du territoire (métropolitain et outre-mer). Cette cohorte sera d'abord sollicitée pour répondre (en ligne ou par téléphone) à un questionnaire de 20 à 30 minutes afin de tenter de préciser notamment leur susceptibilité d'avoir été en contact avec SARS-CoV-2. Parallèlement, la moitié de l'échantillon, sur la base du volontariat, sera invitée à réaliser un prélèvement de quelques gouttes de sang (grâce à un kit expédié à domicile), à envoyer par la Poste. Ce prélèvement permettra de réaliser une recherche d'anticorps anti SARS-CoV-2.

??? Pas evident vues les experiences antérieures avec VIH et les envois au domicile...

STOPCOVID A l'ère de l'endiguement post 11 mai :

Basé sur le Bluetooth, votre portable enregistre les contacts d'une durée de plus de quinze minutes (?), à une distance inférieure à deux mètres (?). Si l'un de vos contacts est touché par le Covid-19, le propriétaire du téléphone reçoit une alerte pour (14 j ?) de confinement gratuit .. Elegant mais pas très franchouillard...

De plus la France a décidé de tourner le dos à la solution développée par Google et Apple, et le bras de fer avec Apple pour la rendre compatible avec le Bluetooth des iPhone (20% du parc) se poursuit. La « centralisation » des données est tout l'enjeu des applications de traçage de la population. Qui dit « centralisation » dit « serveur » où sont stockées les données de utilisateurs. La « décentralisation », prônée par Apple et Google, s'appuie sur des données stockées dans le téléphone, et elle laisse le choix, à l'utilisateur, de partager ses données personnelles, comme son état de santé, avec les autorités sanitaires très jacobin donc...

Les prélèvements : indications et modalités

QUOI PRELEVER

Le virus est retrouvé pendant une durée médiane de 18 jours 13-29 jours selon une cinétique variable en fonction de la gravité dans les sécrétions respiratoires. La charge virale s'élève selon la gravité jusqu'au 10^e ou 12^e jour, et reste ensuite élevée pendant la 3^e et la 4^e semaine de la maladie, alors que dans les formes bénignes, la charge virale diminue après le pic de la 2^e semaine.

22 jours dans les selles quelle que soit la gravité de la maladie

Dans les selles, le virus est retrouvé chez 59 % des patients (22 jours ; 17-31) et avec un pic plus tardif que dans les échantillons respiratoires. **Dr Roseline Péluchon JIM d'après Zheng S et coll. : Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study**

Le virus SARS-CoV-2 ne se retrouve pas dans le sang sauf pour les cas graves, ni dans les urines et certainement pas dans les sécrétions génitales. Il est également présent dans les selles.

Le LBA (Lavage bronchio-alvéolaire) est le plus sensible mais n'est pas pratiqué - Seul le prélèvement nasopharyngé est utilisé en pratique. Sa sensibilité est excellente même si elle a été critiquée. En cas de doute ou d'impossibilité de pratiquer le prélèvement naso pharyngé, penser à la présence possible fréquente dans les selles.

Les tests rapides de détection antigénique ne sont pas validés (que l'on pourrait faire sur place avec le patient), qui détecteraient directement le virus. Ce type de tests existe pour la grippe et ils peuvent aussi être d'intérêt pour écarter le COVID 19 en cas de détresse respiratoire. Leur amélioration est attendue mais pour l'heure à éviter avant évaluations soigneuses du taux de faux négatif

L'étude du JAMA du 11 Mars :

1 070 échantillons de 205 patients par PCR :

Les prélèvements pharyngés ont été effectués entre le 1^{er} et le 3^{ème} jour après l'admission. D'autres prélèvements ont porté sur le sang, l'expectoration, les fèces et les urines tout au long de l'évolution de la maladie. Une fibroscopie avec lavage broncho-alvéolaire (+/-biopsie) n'a concerné que les patients atteints d'une pneumonie sévère ou encore ceux mis sous ventilation assistée (soit 19 % de la cohorte).

En cas de présence de virus dans les selles, quatre échantillons de ces dernières ont été mis en culture en vue d'une étude par microscopie électronique.

La positivité maximale dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire (14/15 ; 93 %) rarement effectué (environ 7 % des cas), puis

(1) l'expectoration (72/104 ; 72 %) ; (2) les écouvillonnages nasaux (5/8 ; 63 %) ; (3) la biopsie bronchique (6/13 ; 46 %) ; (4) les prélèvements pharyngés (126/398 ; 32 %) ; (5) les fécès (44/153 ; 29 %) ; (6) le sang (3/307 ; 1%).

Aucun échantillon urinaire ne s'est avéré positif.

Plusieurs cas de « faux négatifs » rapportés conduisent à la multiplication des scanners voire à leur utilisation comme diagnostic COVID 19.

Avec l'évolution de la maladie, les mécanismes inflammatoires et non virologiques pourraient expliquer des tests négatifs chez des patients. Ce qui est un peu en discordance avec le portage long rapporté en général. Au début de l'infection bien avant de passer en réa, les faux-négatifs sont dus à la qualité du prélèvement qui doit être refait si le clinicien et le radiologue sont perplexes.

Pour une alternative à l'écouvillon naso-pharyngé :

Les salives de 25 patients mais **forme sévère**, obtenues par drooling vs prélèvements nasopharyngés positifs. Chez les patients intubés, la salive a été prélevée à la pipette. SARS-CoV-2 a été identifié dans tous les échantillons de salive, les CT étant inversement corrélée aux taux plasmatiques de LDH. Azzi L et al 10.1016/j.jinf.2020.04.005

Hong Kong avec salives médiane de deux jours après l'hospitalisation (0 à 7 jours). SARS CoV 2 positifs dans salives initiales de 11/12 patients (91,7%). <https://www.chp.gov.hk/en/miniweb/letters/100063.html>

QUI PRELEVER

Les indications de RT-PCR pour recherche du virus SARS-CoV-2 ne concernent, en principe, que des **personnes symptomatiques**. Au 07 avril Seuls font encore l'objet de tests systématiques pour recherche du virus SARS-CoV-2 :

- ☑ Les patients hospitalisés pour un tableau clinique évocateur de COVID-19 afin de valider le diagnostic et éviter la transmission par des mesures d'isolement et d'hygiène appropriées ;
- ☑ Le suivi de l'excrétion virale chez les patients graves en réanimation afin de guider le traitement ;
- ☑ Tous les professionnels de santé ou personnels des structures médico-sociales et d'hébergement dès l'apparition des symptômes évocateurs de COVID-19 ;
- ☑ Les personnes à risque de formes graves et présentant des symptômes évocateurs de COVID-19 ;
- ☑ Les femmes enceintes symptomatiques quel que soit le terme de la grossesse ;
- ☑ Les donneurs d'organes, tissus ou cellules souches hématopoïétiques

Les trois premiers patients dans le cadre de l'exploration d'un foyer de cas possibles au sein d'une structure d'hébergement collectif (en particulier collectivités de personnes âgées mais aussi lieu d'accueil pour les personnes avec un handicap, milieu carcéral, caserne, résidence universitaire...).

De plus, les personnels symptomatiques des opérateurs d'importance vitale sont également prioritaires pour la réalisation des tests de diagnostic.

Pour les autres patients symptomatiques, l'examen clinique devient majeur dans l'identification et la bonne orientation des patients Covid-19.

Dans le cas où un prélèvement en vue de confirmer le diagnostic serait indiqué, il faut indiquer sur l'ordonnance, en plus du test à réaliser, les facteurs de risque et les signes cliniques associés du patient.

Il conviendra d'indiquer au patient la procédure à suivre pour la réalisation du prélèvement (prescription, prise de contact avec le LBM qui indiquera le lieu de réalisation du prélèvement).

Les résultats devront être communiqués au patient dans un délai de 48 heures maximum.

Dans l'attente des résultats du test, le patient devra rester chez lui en respectant les consignes préconisées : https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/covid-19_fiche_medecin_v16032_020falise.pdf

Modalités de prélèvements pour la détection SARS-CoV2 (COVID19)

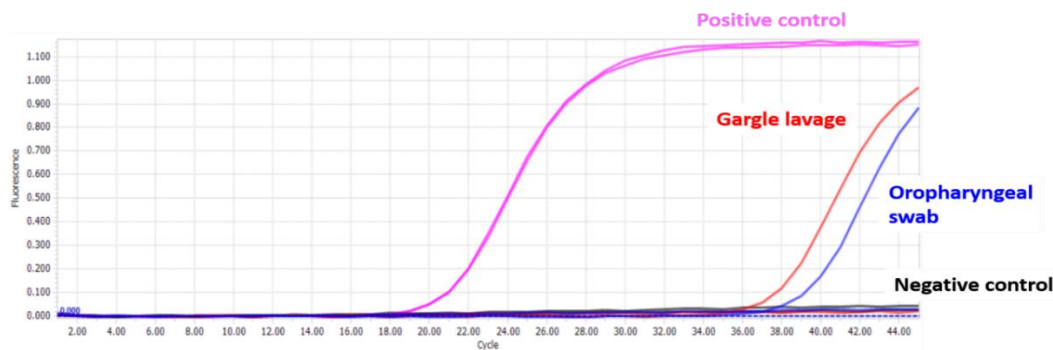
La PCR se pratiquera après extraction des acides nucléiques par le laboratoire sur

- **Ecouvillon naso-pharyngé** (Cf méthode de prélèvement pour la recherche de grippe/VRS sur VISKALI : 1 tube COPAN ou 2 tubes VIROCULT)

NOUVEAU TUTO NEJM

Voir les tuto : <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMvcm2010260?query=RP>

- Ou Lavage broncho-alvéolaire
- Ou Aspiration trachéale ou bronchique
- Ou **lavage de gorge** (? A valider)



- le lavage de gorge avec 10 ml de solution saline est proposé par *Makoto Saito et al* in *CID* <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa377>. *Voir aussi Bennett S et al. J Virol Methods, 2017;248:83-6.*

Salive : collecte par drooling ci dessous 100% de corrélation dans les formes sévères/

exemple du cortisol Cela peut servir de base pour un recueil standardisé A VALIDER salivettes Sarstedt

1-Dans les 30 minutes qui précèdent le recueil de salive, ne vous lavez pas les dents, ne mangez pas, ne buvez pas de jus de fruits et ne fumez pas. Juste avant le recueil de salive, rincez vous la bouche à l'eau.

2-Ouvrez la salivette et extrayez-en le coton.

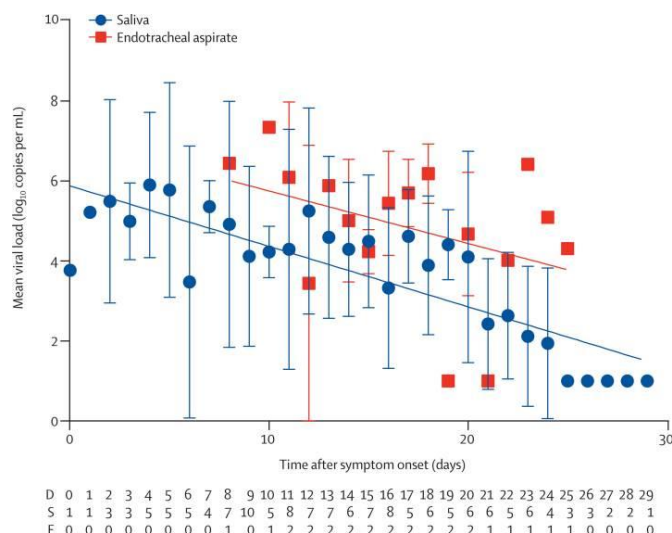
3-Placez le coton dans votre bouche et imbitez le de salive pendant 2 à 3 minutes. L'important est que le coton soit plein de salive.

4-Remettez le coton dans son support puis le support dans le récipient de centrifugation et rebouchez. (voir schéma)

5-Mettez la salivette au réfrigérateur en attendant de l'apporter au laboratoire dans les 48h.

Le prélèvement oropharyngé : plus simple que nasopharyngé on peut envisager l'auto prélèvement

Lancet Infect Dis. 2020 Mar 23. pii: S1473-3099(20)30196-1. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1.



Penchez légèrement la tête en arrière du patient et demandez-lui de prendre une grande respiration.

- A l'aide d'une spatule en bois, poussez bien la langue vers le bas. Demandez au patient de dire "AH".
- Placez l'écouvillon contre la paroi arrière de la gorge et pressez le 2 à 3 fois contre la paroi dorsale du pharynx, à gauche et à droite. Faites-le en douceur, mais de manière ciblée et rapide. Si vous ne réussissez pas un mouvement, demandez au patient de prendre une autre grande respiration et de dire "AH".



document de l'UZ Gent, Belgique https://covid-19.sciensano.be/sites/default/files/Covid19/COVID19_procedure_sampling_FR.pdf

Liquide créviculaire : à explorer

TESTS DE RECHERCHE DE L'ARN VIRAL

Idée fausse : il existerait de nombreux faux négatifs en PCR :

Gilbert Greub à l'Institut de microbiologie du CHU Vaudois Lausanne a réalisé plus de 14 000 tests PCR depuis le début de la pandémie. Sur ce total, seulement une quinzaine ont eu des résultats discordants alors qu'ils étaient prélevés à un ou deux jours d'intervalle. La qualité des prélèvements et le sérieux des laboratoires montrent que la PCR reste l'outil de base.

<https://www.chuv.ch/fr/microbiologie>

- **LES TECHNIQUES CLASSIQUES AUTOMATISEES Haut débit**
- Roche cobas® 6800 System et 8800 System : Ce test est un test RT-PCR en temps réel qui permet la détection qualitative du virus dans des échantillons d'écouvillons nasopharyngés et oropharyngés ; résultats en trois heures

et demie. Attention seuls les laboratoires équipés des automates 6800 (les hôpitaux) ou 8800 (CTS et labos privés types Cerba) peuvent réaliser le test. Traite jusqu'à 384 (**cobas**[®] 6800) et 960 tests (**cobas**[®] 8800) dans un délai de 8 heures. En pratique optimale (!) jusqu'à 96 résultats en moins de 3,5 heures*, puis 96 résultats supplémentaires toutes les 90 minutes pour **cobas**[®] 6800 (et toutes les 30 minutes pour 8800). Les automates sont construits en Suisse mais le test produit aux USA.

- Abbott m2000™ System
- Hologic Panther Fusion® System
- GeneXpert® Infinity System : une référence mais nécessite un automate spécifique qui peut réaliser de 3 à 6, 12, 24 ou plus selon le nombre de module. Proposé à 20 US\$ le point pour le fond mondial. Qualitatif l'APHP est livré mais compte goutte
- NeuMoDx™ 288 Molecular

L'automate Qiasat peut rendre un résultat en 1h unitaire et détecte 11 autres pathogènes respiratoires. Utile aux SAU.

Le test unitaire SARS-CoV-2 BioFire COVID-19 est disponible en quantité limitée pour happy few

LE TEST COMMERCIALISE ADAPTABLE SUR CHAÎNE OUVERTE

- Altona largement utilisé donne de bons résultats
- ARGENE[®] SARS-CoV-2 R-GENE 2 gènes s RdRp gène et N-gène (bioM aurait décuplé sa production) CE-IVD
- Atila iAMP[®] COVID-19 Detection Kit , iAMP-COVID-100-RUO De Fujirebio Inno LiA (isotherma-PCR I à partir directement de l'ARN de l'écouvillon, pas de procédures d'extraction ; gène N et de l'ORF-1ab du SRAS-CoV-2
- PrimeDirect Probe RT-qPCR de Takara Bio sans étape d'extraction en 35 - 45 minutes sur ENP, EOP et salive. Proposé à 1,5 € le point (à contrôler)

LES KITS COMMERCIAUX ASIATIQUES OU LES TECHNIQUES MAISON permettent de rendre un résultat en 3-4h . Des centaines sont proposés . A éviter si pas de validation nationale

LES TECHNIQUES DITES MAISON (PCR test "Allemand" de Drosten ou Pasteur ou autres) doivent être manipulés avec soin uniquement par des laboratoires expérimentés en raison des risques de contaminations des tests donnant de faux positifs.

Les laboratoires moins équipés, moins expérimentés et avec un moindre débit pourront s'orienter vers les automates types Qiasat ; E pLex, bioFire, Cepheid..., unitaires. Et qui donnent les co-infections simultanément. Parfois cher (>100 euros le test)

Si les laboratoires sont déjà équipés en Cepheid GenXpert, le test est disponible réalisable en 45 mn.

D'autres automates font leur apparition sans cesse. Mais il faut rester sur du connu. Surtout pour l'Afrique pour assurer la distribution.

LES TESTS RAPIDES MOLECULAIRES POUR L'ARN :

Vont détecter de façon unitaire l'ARN des écouvillons. Un grand avenir car ils seront sensibles dans le même ordre que les tests actuels et permettront un diagnostic dès les urgences. Un petit automate est nécessaire

1/ ID NOW COVID-19 Test : Détecte l'ARN en 5 mn en cas de positivité et 13 mn pour un résultats négatif. La technique est la plus rapide basée sur un système isothermal. Abbott vise 50 000 tests par jour en production.

plateforme Abbott Alere
ID NOW



2/ Biosynex France commercialisera un test développé par la société singapourienne Credo Diagnostics Biomedical basé sur le même principe

3/ Bfiocure : idem cette fois le résultat promis en....10 mn

Avec leur système Chronos . Retenu par l'armée française l'évaluation Nomorecov" devrait aboutir à un premier prototype dans six testé par le laboratoire de virologie de l'hôpital Saint-Louis à Paris.



Nomorecov"
mois. Il sera

4/ En recherche Française : le test EasyCov à partir d'un écouvillon et de réactif mis à 65° pendant 30 mn lisible à l'œil nu a déjà permis de détecter de l'ARN viral isolé en laboratoire et du virus actif donc à très haute concentration. Sys2Diag, du CNRS et CHU de Montpellier vont évaluer sa performance en double aveugle sur 180 échantillons salivaires. Résultats fin Avril.



5 /SARS-CoV-2 DETECTR (~30 min) CRISPR-Cas12 based lateral flow assay à partir des écouvillonnages et d'une extraction ARN.

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.06.20032334v2>

Les multiplex à venir :

A cette heure les tests syndromiques sauf Qiasat ne sont pas encore modifiés pour reconnaître le SARS CoV-2 et le seront dans les mois à venir

Bosch Vivalytic analyseur et cartouches pour SRAS-CoV-2 et neuf autres virus respiratoires

disponible en Allemagne , entièrement automatisés pour SRAS-CoV-2 et neuf autres virus respiratoires en 2,5 heures.

BioFire® RP2.1plus Panel étendu avec le SARS-CoV-2 Fin juillet (?)

La quantification de la charge virale : attention on l'exprime en CT (Cycle Threshold) ce qui doit être bien compris alors que les PCR se basent sur des dilutions donc sur un calcul en logarithme. CT correspond au point seuil pour lequel le signal est supérieur au bruit de fond, c'est-à-dire au nombre de cycles minimal pour lequel l'ADN amplifié est détectable. Ce point est atteint en début de phase exponentielle. Plus la quantité d'ADN initiale sera faible, plus le CT sera élevé. Plus le CT est bas (ie 16,18 cycles) plus la quantité d'ADN (donc après rétro-transcription dans le cas des virus ARN) dans l'échantillon est importante. Inversement plus le CT est élevé moins il y a d'ADN et surtout moins la PCR est répétable. Au-delà de 35 CT il faut oublier la valeur 'quantitative ' de la PCR et interpréter avec prudence le résultat.

Les cliniciens sont habitués à faire confiance à leur virologue pour interpréter les résultats et se reposent sur l'idée de qualité des tests HIV HVC etc.. Mais un prélèvement sanguin hautement standardisé et répétable ne peut être comparé à un écouvillonnage.

High-throughput SARS CoV 2 détection via qPCR

- Takara Bio propose une [SmartChip Real-Time PCR System](#), pour amplifier les coronavirus. Reste à voir la sensibilité et l'intérêt compte tenu de performances des grosses cylindrées

TESTS DE RECHERCHE DIRECTE DES ANTIGENES SUR LA SALIVE

LA NOUVELLE FRONTIERE ou le pire et les meilleurs ?

Les tests de détection des antigènes sur les écouvillons naso pharyngés ou par auto prélèvements de gorge

Attention qualité très peu fiable non recommandés par l'OMS des test rapides venant de Chine ou du SEA : **WHO does not currently recommend the use of antigen-detecting rapid diagnostic tests (08 04)**

Une mine d'or exploitée par les fabricants –(parfois peu scrupuleux sur la qualité) ! il s'agit de remplacer la PCR par un 'docteur test' comme ceux-ci-dessus pour détecter les anticorps mais cette fois pour détecter les antigènes viraux ; mais détecter les antigènes c'est compliqué et peu sensible. En Afrique ou dans les situations compliquées ; la sensibilité attendue est de 60%

QQ exemples à la letter A / AmonMed Biotechnology Co., Ltd COVID-19 Antigen Test Kit (Rare Earth Nano Fluorescence Immunochromatography) (CE-IVD) ; Abwiz Bio RabWiz Ultra Sensitive COIV-19 Viral Antigen Test Kit; Academia Sinica SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein Rapid Detection Kit; AmonMed Biotechnology Co., Ltd COVID-19 Antigen Test Kit (Rare Earth Nano Fluorescence Immunochromatography) (CE-IVD) .. qui n'hésite pas à s'intituler CE IVD... Pour les suivants allez sur le site FIND..

Mais peut être demain une solution de tri rapide avec les nouveaux tests antigènes de qualité ? ?

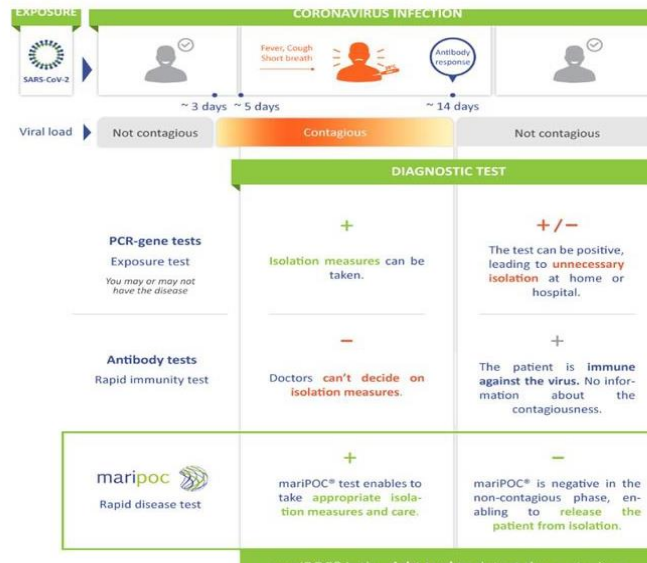
L'objectif de cet tests sera une sensibilité supérieure à 90% peut être limitée mais une réponse sur le chmap en 15 mn. Exportable sur tous les terrains.

Et aussi la perception de virus encore capable d'être répliatif et de produire de l'antigène

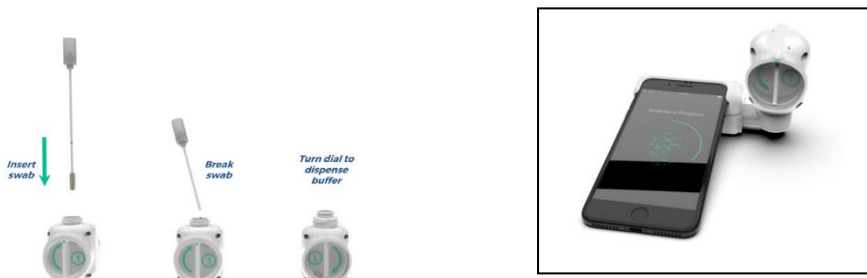
Et bien sur d'être des 'home test'

le BARDA (Biomedical Advanced Research and Development Authority) vient de mandater la plate-forme OraQuick® d'OraSure pour un auto-test ou par les professionnels de la santé de détection de l'antigène salivaire. A partir d'un échantillon de fluide oral (liquide créviculaire) pour des résultats en 20 minutes. Aucune instrumentation ni personnel qualifié ne serait nécessaire. D'ici 4 à 6 mois Pour les Pan coronavirus SARS COV 1 et 2

MARICPCO <https://www.arcDia.com/novel-coronavirus-test/> : ARCdias's qualité finlandaise promise...avec service épidémiologique utilisant le Cloud . basée sur ArcDia™ TPX (Two-Photon Excitation) assay Ques aco : ?) : antigènes sur microparticules et fluorescence excitée par laser avec réactivité directement proportionnelle autoverification de l'analyse des échantillons. Promising ?

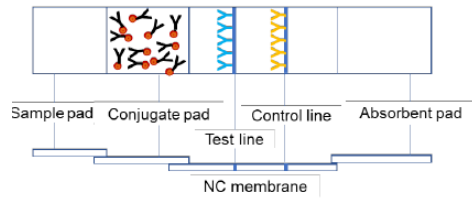





Luminostics développe un autotest de avec détection chimioluminescence de nanoparticules via l'optique du smartphone : ce ne sont pas des loustic c'est sérieux soutenu par Sanofi .Reste à évaluer



E25Bio stratup US fondée en 2018 au MIT , nanoparticules pour capturer et détecter les protéines virales sécrétées dans les flides oraux et respiratoires des SARS COV 2 . Expérience passées avec Zika et dengue. Viennent de recevoir 2 M de US\$ pour commencer les tests. En 15 – 20 MN

Diao et Al <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.07.20032524v2> Test immunochromatographique par fluorescence pour 239 participants dans 7 centres : protéine de la nucléocapside dans des échantillons nasopharyngien en parallèle avec PCR en 10 minutes. 100% des participants positifs et négatifs vs PCR . Etude préliminaire complémentaire détecte la protéine de la nucléocapside dans l'urine de 73,6 % des patients diagnostiqués COVID-19.



-  Europium (III) conjugated antibody
-  The mouse anti-2019-nCoV NP M1 antibody
-  The goat anti-rabbit IgG antibody



TESTS DE RECHERCHE DES ANTICORPS :

Il s'agira essentiellement d'une réponse locale pulmonaire de type sécrétoire Ig A de durée plus réduite. La présence d'Ig M et Ig G est aussi possible après le switch isotypique. Toutes les études bien conduites montrent que l'on est dans une infection classique quant à la dynamique d'apparition des anticorps : Ig A & Ig M puis Ig G vers 10-15 jours au plus tard 21 jours. La seule question est le taux d'anticorps et leur détectabilité chez les a- ou pauci symptomatiques et surtout le manque de sensibilité des tests (surtout les tests rapides) pour détecter ces populations. Et leur durée dans le temps mais l'expérience montrent la permanence des IG G sur des années y compris pour les virus respiratoires pour autant que les tests soient sensibles. Et les patients SARS-COV de 2003 ont encore des IgG

Un point très complet du John Hopkins Hosp sur le diagnostic sérologique aux USA et les tests FDA +

<https://www.centerforhealthsecurity.org/resources/COVID-19/serology/Serology-based-tests-for-COVID-19.html#sec2>

"No test is better than a bad test " M. Busch April 20

https://www.nature.com/articles/d41586-020-01115-z?utm_source=Nature+Briefing&utm_campaign=2ed1c0614b-briefing-dy-20200420&utm_medium=email&utm_term=0_c9dfd39373-2ed1c0614b-45155970

L'éditorial de Nature du 18 04 est clair : certains tests anticorps commerciaux ont des spécificités de 40% en début d'infection. Dans une analyse de 9 tests commerciaux disponibles au Danemark, 3 des sensibilités allant de 67 à 93% et des spécificités de 93 à 100%. Dans la même étude, cinq tests sur six des sensibilités allant de 80 à 93% et une spécificité de 80 à 100%. Certains kits sont testés sur moins de 30 personnes. Lassaunière, R. et al. Preprint at medRxiv <https://doi.org/10.1101/2020.04.09.20056325> (2020).

Les grands tests sur automate :

1- le test Diasorin fabriqué et évalué en Italie pourrait permettre du débit semi rapide. Il détecte les anticorps Ig G anti S1 et S2. Il dispose du marquage CE et disponibilité du kit fin avril en France mais jusqu'à fin juillet, en disponibilité limitée. Des plateformes automatisées Liaison XL (170 serum /heure) permettent d'envisager des séries de plusieurs centaines d'échantillons par jour. Les évaluations ont été faites en Lombardie et Diasorin est reconnu pour son sérieux dans la production des kits de diagnostic. C'est le premier test ELISA de fabrication européenne qui peut inspirer confiance mais sa production va être très limitée et la demande très forte; Il serait idéal pour les études ponctuelles : épidémiologie, personnel Ehpad et soignants

2 –Le test anticorps Ig G Abbott : enfin libéré !

LE marquage CE attendu pour le 27 avril et des livraisons possibles (AP-HP) dès le 28/04. Ces tests fonctionneront d'abord sur les Architect i2000 (d'abord ceux qui sont couplés). Fin mai, ces tests seront ensuite disponibles sur les automates Alinity :

Les 1ères semaines, les calibrants et contrôles sont rationnés (1 boîte tous les 21 jours par paire d'Architect). Abbott annonce une production de 100 000 tests / semaine pour la France puis très rapidement 1 M de tests. Ils sont fabriqués en Ireland. 5 euros HT le test (calibrant : 115, contrôle 92).

- Le test est de bonne qualité : La sensibilité à 10 jours est de 93% et 100% à 14 jours (sur 90 patients hospitalisés et 30 guéris).
- La spécificité sur 1000 personnes > 99,5%.
- CV < 3%.

ABBOTT va recenser les estimations de consommations par semaine des différents laboratoires concernés (à l'APHP et en France). Ensuite, le surplus sera envoyé dans d'autres pays, d'où l'intérêt de disposer d'une stratégie nationale de tests : seulement les patients et le personnels de hôpitaux/EHPAD ou toute la population à terme. Existe-t-il une immunité ? et combien de temps ?

- Roche Elecsys® Anti-SARS-CoV-2 IgG pour sérum et plasma humains entièrement automatisés résultats de test SARS-CoV-2 en environ 18 minutes, avec un débit de test allant jusqu'à 300 tests

-Pour Siemens, en attente pour les plateformes Atellica® Solution et ADVIA Centaur® XP/XPT/CP – Idem Roche
 -Beckman , en attente pour l'automate haut débit tests fabriqués en France ce qui évitera un embargo US
 l'automate UniCel Dxl 800 Access permet 400 tests /heure

Eurobio Scientific SARS Cov-2 IgG et IgM CLIA sur MagLumi COVID-19 fabriqué par SNIBE (Chine) 0 à 280 échantillons par heure

Un test vidal pour cet été ??

Les tests EIA en plaques semi manuels :

Test EIA 96 puits distribué en France :SARS-CoV-2 virus lysat purifiés comme antigène ELISA kits indirect pour les Ig G et par immunocapture pour les igM: GENOMIC VISION Green Square Bâtiment E 80-84 rue des Meuniers 92220 Bagneux - France Tél. (33) 1 49 08 54 41Tél (33) 6 81 87 37 91www.genomicvision.com

- Test EIA 96 Orgentec
- Test EIA 96 EuroImmun Ig A et I g G
- etc/ **Rien de validé pour l'heure**

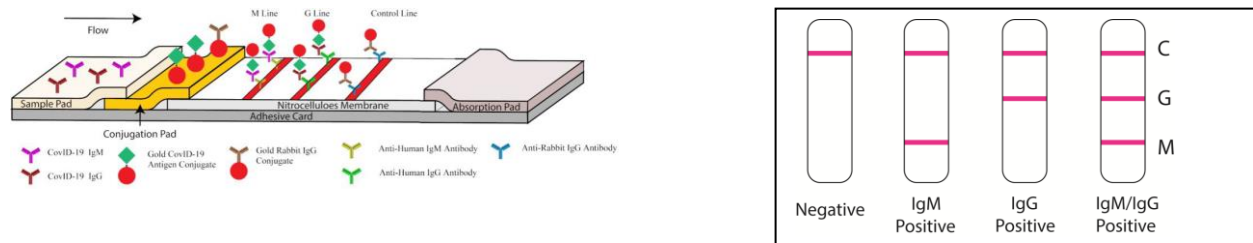
Les tests rapides : unitaires les moins sensibles à éviter sauf validation en France.

Le 08 avril , WHO recommends the use of these new point-of-care immunodiagnostic tests only in research settings

Avis du CNBM 14 avril : La Commission nationale de biologie médicale recommande de n'autoriser que des tests rapides d'orientation diagnostique (TROD) et examens de biologie (RT-PCR ou trousse Elisa) dont les techniques ont été validées par les CN). Tout usage de tests ou examens non validés par les CNR devrait être interdit La CNBM souhaite la publication de textes réglementaires et de largement communiquer, y compris par voie de presse, sur cet impératif.

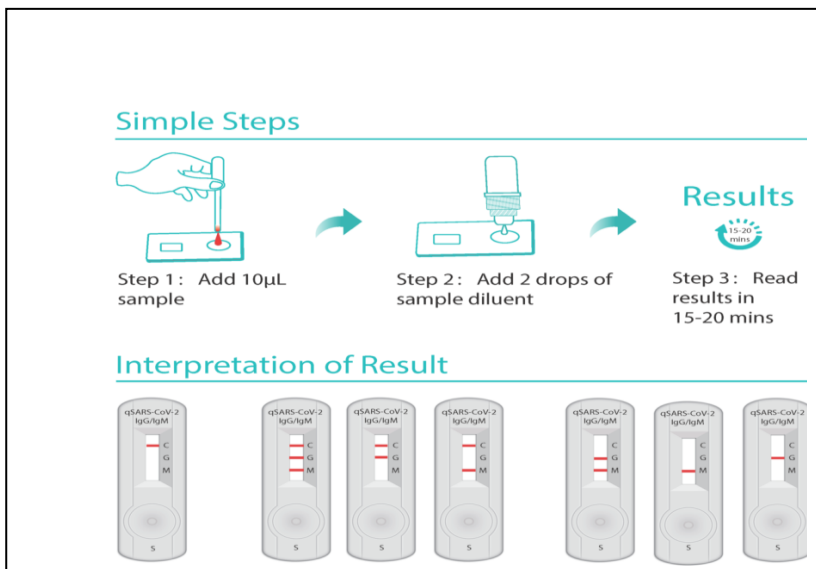
Premiers essais dès le début de la crise de tests dits immuno-chromatographiques en Chine pour détecter au lit du malade les anticorps IgM et IgG anti SARS-CoV-2

Exemple : 397 PCR confirmed COVID-19 sérum : 128 négatifs : sensibilité 88.66% ; spécificité 90.63%. Pas terrible



Development and Clinical Application of A Rapid IgM-IgG Combined Antibody Test for SARS-CoV-2 Infection Diagnosis tu276025@gird.cn; yefeng@gird.cn doi: 10.1002/jmv.25727.

***1er test FDA Approved :** CELLEX qSARS-CoV-2 IgG/IgM Rapid Test (chine) Positive Percent Agreement of 93.75% (95% CI: 88.06-97.26%) and Negative Percent Agreement 96.40% (95% CI: 92.26-97.78%),



Note de FS: la clarté des bandes n'a rien à voir avec celles présentées par le fabricant

Les tests rapides Anticorps disponibles en France : importés pour la majorité de Chine

Mobidiag (HQ) :Anti-SARS-CoV-2 détecte les IgG et IgM dans le sérum, le sang ou le plasma en 15 minutes environ. Fabriqué par Autobio Diagnostics partenaire de Mobidiag 172 rue de Charonne 75011 Paris adv@mobidiag.com

PHarmact idem propose les seuils de sensibilité suivants :

Stade précoce 4-10 j : IgM 70%

Stade tardif Ig M 11-24 : 92.3% et Ig G 98.6%

Hardy diagnostic

A priori double piste G et M pour sérum, le sang ou le plasma en 15 minutes environ. La double piste est un plus.

- sensibilité spécificité > 96.2% (?? selon le fabricant)



COVID-PRESTO® IgG/IgM est marqué CE par AAZ - Nephrotek

En 10 minutes, à partir de 10 µl de sang au bout du doigt, le test montre une positivité entre J8 et J21 après l'apparition des premiers symptômes pour l'ensemble des patients testés (résultats préliminaires de deux études d'évaluation actuellement en cours en France). AAZ 43 rue de Bellevue ; 92100 Boulogne-Billancourt ; www.covid19aaz.com

NG-Test IgG-IgM COVID-19 de la société bretonne NG Biotech avec les honneurs de la presse : en 15 minutes pour détecter et différencier Ig G et M. premiers essais encourageant mais à transformer en production industrielle. Avec son 'auto piqueur' pour collecte du sang capillaire...Chic

BioSpeedia, développe une technique rapide par immunochromatographie Une première étude menée sur 146 serum montrerait une spécificité de 98,1 à 100% et une sensibilité de 95,5 à 100%

STANDARD Q COVID-19 IgM/IgG Duo...

DiaQUick Ig G et M probable importation : Aximed Route de Chirassimont ; Chez Jeannot (??) ; 42470 Fourneaux

Et des centaines de tests tous basés sur de l'immunochromatographie et proposant des détection Ig G et Ig M à partir du serum et du sang total . A retrouver sur la liste FIND . Sur la base des expériences acquises lors des infections par HIV et Hépatites il ne faut pas attendre de sensibilités ni spécificité correctes des ces tests non évalués ; Le marquage CE une fois de plus ne veut rien dire. Idem FDA en *EmergencyUse Authorization (EUA)* ne vaut guère plus. Seules les évaluations à grande échelle avec des fabricants capables d'assurer une standardisation des lots , d'assurer production et distribution

Au Royaume Uni 3,5 millions d'autotests du coronavirus en 15 minutes, devaient être distribués aux citoyens... mais les autorités se rendent compte à temps que les tests rapides ne sont pas évalués correctement et reviennent sur leur décision. Idem l'Espagne a retourné ses commandes au fabricant

Il semble que l'Armée Française ait craquée pour l'achat massif de test. A priori "nationaux" . Peut être l'occasion d'avoir uine grande étude indépendante.

Les traitements : plus de 350 protocoles en cours

Purement symptomatique : paracétamol et repos avec hydratation abondante pour la majorité en s'isolant du reste de la maisonnée et en portant un masque type chirurgical pour limiter la contagion.

A cette heure aucun traitement spécifique ANTIVIRAL validé

VOIR <https://clinicaltrials.gov> and <http://www.chictr.org.cn>.

La chloroquine et l'hydroxychloroquine fin de partir

Publié le 30 mars par l'équipe de JM Molina Saint-Louis a recruté 11 patients hospitalisés à 600 mg par jour pendant 10 jours et 500 mg d'azithromycine le premier jour, suivi de 250 mg par jours pendant 4 jours. Les patients étaient toujours positifs pour la présence de SARS-CoV-2 au bout de 6 jours. Un article de deux pages a été publié, sans aucun résultat d'essais cliniques conduits en Chine
https://www.jstage.jst.go.jp/article/bst/14/1/14_2020.01047/_pdf/-char/en

Tang et ses collègues rapportent chez 150 patients s une réduction significativement plus importante de CRP jour 28 dans le groupe HCQ par rapport au groupe témoin (6,986 vs 2,723 mg / L). Effet anti inflammatoire ? Pas celui proposé par DR. Les deux bras étaient similaires d'évolution favorable au jour 28: 59,9% avec HCQ plus SOC vs 66,6% avec SOC seul

En prophylaxie peu de chance que le tissu pulmonaire soit assez riche en CQ après de faibles doses. Utilité ?

Clap de fin ??

Une synthèse critique de la "littérature" sur la CQ - neutre c'est normal par les HUG :

https://www.hug-ge.ch/sites/interhug/files/structures/coronavirus/documents/hydroxy-chloroquine_et_covid-19.pdf

COMMENTAIRES FS

La chloroquine (C) et son dérivé l'hydroxychloroquine (HC) inhibent in vitro la réplication des virus enveloppés dont le relargage du génome dans le cytosol par fusion de la membrane virale avec celle de l'endosome requiert une acidification. En effet, ces drogues bloquent l'acidification du pH endosomal. Cette action est connue depuis des dizaines d'années ...et n'a jamais été montrée comme efficace contre le moindre virus sauf in vitro. Il a été montré en Chine que, comme attendu, la C et l'HC ont une activité antivirale sur le SARS CoV 2 **in vitro**. Cela n'implique pas nécessairement cependant que ces drogues ont une activité antivirale in vivo

Autres médicaments

Les aérosols de Ribavirine sont complexes à mettre en œuvre avec des risques de spasmes et aussi de contaminations des soignants. Et le SARS ne semble pas une bonne indication car la nsp14 du SARS CoV -2 (qui nettoie les erreurs de la polymérase) exciserait les erreurs induites par la ribavirine **A éviter**

Le Kaletra (lopinavir/ritonavir) pas de différence d'amélioration clinique, de mortalité, d'ARN viral détectable. Effets indésirables gastro-intestinaux sous lopinavir NEJM March 19, 2020. **Selon Janssen, le darunavir n'est pas efficace en raison de sa faible affinité pour la protéase du coronavirus (FS ce qui doit être le cas de toutes les IP sauf peut être le nelfinavir)**

- **Remdesivir** en essai randomisé en double aveugle en Chine. Les infos fuitées ne sont guère s excitantes mais c'est attendu. Il s'agit d'un analogue nucléotidique utilisé un peu contre tout (Ebola, MERS, Nipah...) avec des résultats pas toujours convaincants. Ne pas en espérer trop. Le NIH l'a testé contre le MERS

chez 18 singes rhésus: les 6 animaux qui n'avaient pas reçu le remdesivir sont tombés malades. Mais les six singes auxquels on a administré le médicament 24 heures avant leur infection par le MERS ne présentaient aucun symptôme respiratoire. Les singes ayant reçu l'antiviral 12 heures après avoir été infectés ont présenté des signes de maladie. Idem à suivre (Financé par Gilead Sciences.) de 18 jours, 36 patients (68%) ont connu une amélioration dont 17 extubés.

Anthony Fauci annonce que sur plus de 1000 personnes celles prenant du remdesivir ont récupéré en 11 jours en moyenne contre 15 jours pour celles sous placebo. Les résultats d'autres essais du médicament n'ont pas été concluants.

Réacting bart un peu de l'aile et n'arrive pas à recruter selon Y Yazdanpahan ce jour

Solidarity un essai mondial comparera remdesivir, lopinavir et ritonavir, cette même association combinée à l'interféron bêta, et la chloroquine. Sous l'égide de l'OMS (qui décidemment aura tout faux de C à 9 dans ce COVID 19), Aucun n'ayant montré une quelconque activité on se demande pourquoi insister (FS)

- NHC, EIDD-1931 analogue nucléosidique β -D-N4-hydroxycytidine activité antivirale à large spectre vs SRAS-CoV-2, MERS-CoV, et SARS-CoV et les Cov des groupes 2b ou 2c Bat -CoVs, ainsi qu'une activité vs des mutations de résistance au remdesivir. Chez les souris SRAS-CoV ou l MERS-CoV, l'administration prophylactique et thérapeutique d'EIDD-2801, prodrogue du NHC biodisponible par voie orale (β -D-N4-hydroxycytidine-5'-isopropyl ester) améliore la fonction pulmonaire et réduit le titre viral. La diminution de replication du MERS-CoV in vitro et in vivo a été associée à une augmentation de la fréquence de mutation de transition dans l'ARN viral en faveur d'une mutagenèse létale (T. P. Sheahan et al., Sci. Transl. Med. 10.1126/scitranslmed.abb5883 (2020).

Des centaines d'essais sont en cours avec divers antiviraux en recyclage et surtout diverses associations entre eux (Sofosbuvir, IP et oseltamivir etc.). Rien à espérer sur ce qui est publié pour l'heure (FS)

POUR LA PRISE EN CHARGE DES PATIENTS

Essai contrôlé randomisé multicentrique du **tocilizumab** (blocage des récepteurs IL-6) dans les syndromes de libération de cytokines chez des patients avec élévation du taux d'IL-6. L'inhibition de la Janus kinase (JAK) pourrait affecter à la fois l'inflammation et l'entrée cellulaire du virus. 'étude a porté sur 30 patients, atteints de formes sévères de Covid-19 et dont la condition se dégradait rapidement.

Essai APHP ouvert : les patients traités au tocilizumab ont nécessité moins de recours à la ventilation mécanique et moins de passages en service de réanimation. faible nombre de patients

Roche mène une étude randomisée et groupe témoin en double aveugle sur 330 patients

Le prix du tocilizumab peut-il poser problème ?

Le médicament de Roche affiche ainsi des prix bien plus élevés que les autres traitements actuellement à l'essai.

En France, le prix pour une injection de tocilizumab est de plus de 800 euros. Le prix du tocilizumab varie de 510 \$ (469 €) au Pakistan à 3383 \$ (3110 €) sur le sol américain.

Baricitinib, fedratinib et ruxolitinib : sont des inhibiteurs de signalisation JAK-STAT et de puissants anti-inflammatoires indiqués vu les niveaux élevés de cytokines (dont l'interféron- γ). Le baricitinib produit une

altération de la réponse antivirale en bloquant le signal JAK-STAT. Donc risqué . Attendre les expériences italiennes

COLCORONA, étude randomisée en double-aveugle par l'Institut de Cardiologie de Montréal sur la **colchicine** comme AI (PM déjà utilisée lors des péricardites virales. En préventif de l'orage chez les patients à risques... Serais utile +++ en PED vue le cout

L'ivermectine : sensibilité in vitro des VIH, dengue, grippe, Zika et SRAS-CoV-2.... Kylie Wagstaff (Monash Biomedicine Discovery Institute) rapporte qu'une seule dose pourrait éliminer l'ARN viral en 48 heures et en 24 heures une réduction significative. Le mécasime serait une atténuation des effets du virus contre des facteurs de restrictions cellulaire. Cela sent la chloroquine bis (avis FS)

L'APN01 est une version soluble et recombinée de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ACE2 pour leurrer la liaison avec le Spike. Réduit in vitro la charge virale d'un facteur 1 000 à 5 000 (FS ce qui fait 3 log sur les 10 Log en culture ...)

Sérothérapie et Ig G : un intérêt croissant

Les Chinois font un essai avec déjà au moins 245 patients sans retour pour le moment. Cette thérapie désespérée avait été utilisée de par le passé avec un certain succès (Rougeole, diphtérie ...) y compris lors des épisodes Ebola et il ne faudrait pas que les plasmas de convalescents n'aggravent les états de choc par une quantité trop importante de cytokines liées à leur récente infection.

5 patients de 36 à 73 ans, avec syndrome de détresse respiratoire aiguë avec PaO₂/FiO₂ inférieur à 300 ont reçu (une poche ?) de plasma, issue de cinq patients guéris administrée entre 10 et 22 jours avec une nette amélioration

Le Johns Hopkins Hospital vient d'obtenir l'approbation de la FDA pour une thérapie basée plasma sanguin pour les cas sévère mais aussi en prophylaxie pour renforcer l'immunité des soignants à haut risque

COVIDPLASM K Lacombe à St Antoine : 30 patients, malades depuis cinq ou six jours, recevront ce plasma riche en anticorps lors de deux transferts, à 24 ou 48 heures d'écart, des patients en début de maladie avec un profil d'évolution vers une forme sévère sujets âgés ou comorbidités
Grande étude également lancée au Canada ;

Monoclonaux ou immunoglobulines traitées: Takeda propose une immunoglobuline TAK-888 par concentration d'anticorps anti SARS Cov2 de plasma de patients guéris

Les Vaccins

Quelle sera l'immunité post infectieuse réelle ? modeste probable de quelques mois à quelques années après une infection par Cov 2. Un peu comme la grippe

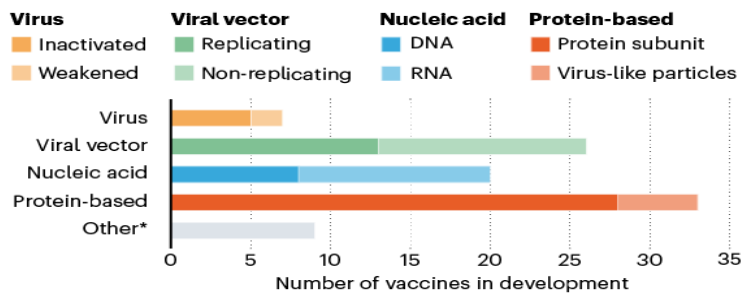
Elle sera aussi probablement très cellulaire T car les infections respiratoires de ce type ne sont pas systémiques et il n'y a pas de virémies donc une réponse plus localisée. Et probablement une immunité moindre qu'après une rougeole ou une varicelle. Donc le vaccin va nécessiter assurément de multiples rappels.

Deux vaccins en phase 1 et 50 en pré clinique... Jansen avec un vecteur AD26

Type of candidate vaccine	Developer	Current stage of clinical evaluation	Same platform for non-Coronavirus candidates
Adenovirus Type 5 Vector	CanSino Biological Inc. and Beijing Institute of Biotechnology	Phase 1 ChiCTR2000030906	Ebola
LNP-encapsulated mRNA	Moderna/NIAID	Phase 1 NCT04283461	multiple candidates

Site WHO: Plus de 52 équipes en compétition. https://www.who.int/blueprint/priority-diseases/key-action/Novel_Coronavirus_Landscape_nCoV_Mar26.PDF?ua=1#page=1&zoom=auto,-85,1424 Les annonces dites de "bourses" (i.e. pour faire monter les actions d'un labo) sont plus nombreuses que les prouesses scientifiques. A titre d'exemple, l'annonce d'un vaccin ARN aux USA. Ce jour aucun vaccin ni ADN et encore moins ARN n'a été couronné de succès chez l'homme !

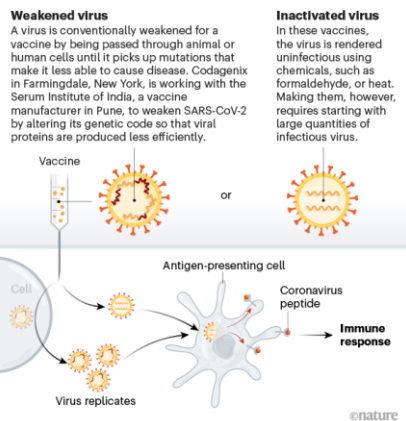
AN ARRAY OF VACCINES



* Other efforts include testing whether existing vaccines against poliovirus or tuberculosis could help to fight SARS-CoV-2 by eliciting a general immune response (rather than specific adaptive immunity), or whether certain immune cells could be genetically modified to target the virus.

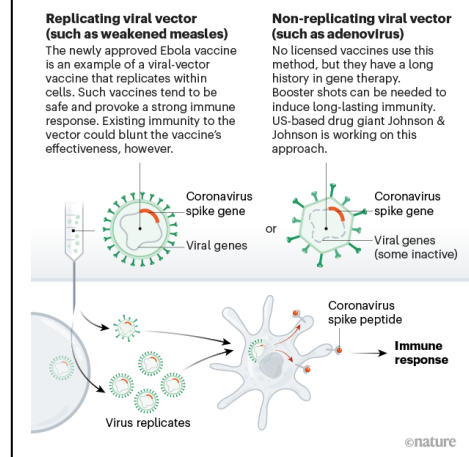
©nature

VIRUS VACCINES



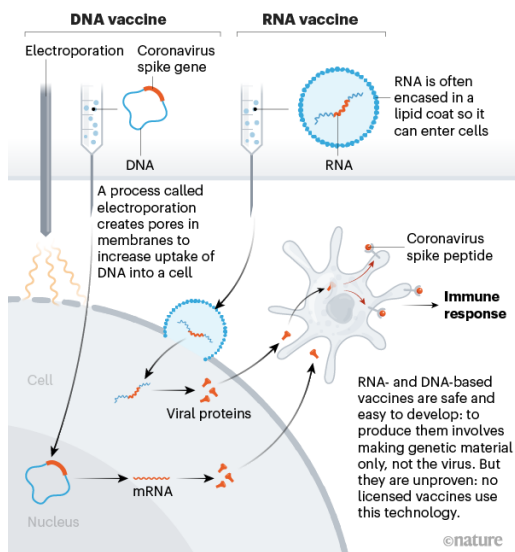
©nature

VIRAL-VECTOR VACCINES



©nature

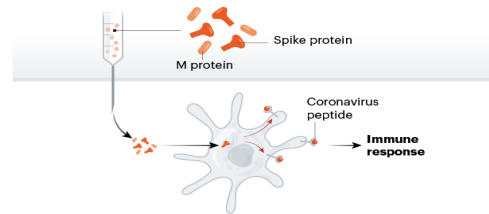
NUCLEIC-ACID VACCINES



PROTEIN-BASED VACCINES

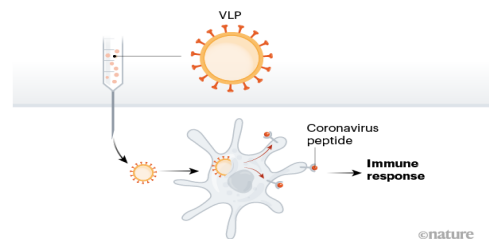
Protein subunits

Twenty-eight teams are working on vaccines with viral protein subunits — most are focusing on the virus's spike protein or a key part of it called the receptor binding domain. Similar vaccines against the SARS virus protected monkeys against infection but haven't been tested in people. To work, these vaccines might require adjuvants — immune-stimulating molecules delivered alongside the vaccine — as well as multiple doses.



Virus-like particles

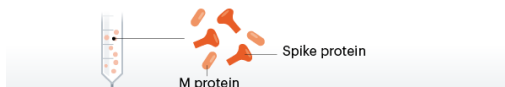
Empty virus shells mimic the coronavirus structure, but aren't infectious because they lack genetic material. Five teams are working on 'virus-like particle' (VLP) vaccines, which can trigger a strong immune response, but can be difficult to manufacture.



PROTEIN-BASED VACCINES

Protein subunits

Twenty-eight teams are working on vaccines with viral protein subunits — most are focusing on the virus's spike protein or a key part of it called the receptor binding domain. Similar vaccines against the SARS virus protected monkeys against infection but haven't been tested in people. To work, these vaccines might require adjuvants — immune-stimulating molecules delivered alongside the vaccine — as well as multiple doses.



- Pour Sanofi, un candidat vaccin baculovirus serait mis au point dans moins de six mois avec le lancement des premières phases cliniques dans un an à un an et demi. L'avance s'expliquerait par les recherches menées par Protein Sciences acquis par Sanofi en 2017; cette start-up US avait mené des travaux autour du Sras chez les animaux. A ce stade les inconnues sont plus nombreuses que les faits.
- GSK dispose aussi d'une large expérience avec ces adjuvant immunogènes
- Sanofi et GSK ont annoncé le 14 04 une collaboration. Sanofi avec son antigène S du COVID-19, obtenu par la plate-forme d'expression du baculovirus (ie base du vaccin recombinant contre la grippe) et GSK apporte sa technologie de production via son adjuvant pierre angulaire de la réponse immune. Phase I prévue au deuxième semestre 2020 et, en cas de succès vaccin à disposition d'ici le deuxième semestre 2021
- vaccin à ARNm (?) associé à la biotech américaine Translate Bio.

□ Le PittCoVacc : approche originale d'Andrea Gambotto, UPSOM par micro array, sorte de tampon de 400 micro aiguilles de sucre présentant en sous cutané des fragments de protéine Spike ? Bons résultats chez la souris avec production d'anticorps neutralisant. Phase 1 va débiter.

Sinovac Biotech a testé son PiCoVacc, souche virale inactivée sur quatre singes dans chaque groupe IM à J0, J7 et J14 de 3 ou 6 µg ou sérum physiologique. Anticorps neutralisants à J14. 8 jours après la troisième injection SARS-CoV-2 par voie intrathécale, . Résultats encourageants

Protection indirecte par le BCG et autres vaccins

Le BCG et des vaccinations de l'enfant comme celle contre la rougeole pourraient également être une piste de protection anti SARS-CoV-2. Ce qui expliquerait que les enfants sont moins atteints que les adultes même si la vaccination contre le BCG n'a plus cours en France sauf IDF depuis 13 ans. A l'inverse, les personnes âgées même vaccinées ne bénéficieraient plus de cet effet protecteur. (Camille Loch, directeur de recherche INSERM, IPL)

Conclusion au 01 05

Voici une petite synthèse de données confirmées sur cet événement considérable. De fait on se retrouve devant le SARS de 2003 mais là qui réussit son épidémie. Les chinois ne nous ont pas tout dit :

- *Antériorité de l'épidémie probablement dès octobre-novembre voire septembre 2019 avec grand nombre de cas déjà accumulés lors de la déclaration d'où la gravité de la situation épidémiologique prise en charge trop tardivement. Selon le South China Morning Post sur un rapport officiel, un premier cas aurait été identifié mi novembre. Les cas paucisymptomatiques, l'accès vers les hôpitaux pour les seuls cas graves pourraient expliquer une diffusion antérieure importante avant ces dates.*
- *Les chiffres : qui peut croire que la Chine n'a enregistré que 82 000 cas et 5000 décès*
- *Gravité des cas : en cas d'hospitalisation donc d'une forme sérieuse très forte probabilité de passer en réa parfois et en quelques heures. Comorbidités, risque de complications. Pauvreté des descriptions cliniques et absence d'histoire naturelle de la maladie. De fait c'est le Sars qui est de retour avec plus de cas a- ou paucisymptomatiques ; ce qui était peut être aussi le cas en 2003 mais que les efforts (et la chance) nous avaient permis de maîtriser*
- *Formes graves des jeunes rares, mais foudroyantes identiques à celle du SARS*
- *Et maintenant une production à tout va de matériel de diagnostic de pauvre qualité sans évaluation correcte. On peut être certain que CanSino Biological Inc. et le Beijing Institute of Biotechnology vont clamer avoir un vaccin d'ici quelques semaines dont l'immunogénicité restera à prouver.*

Mais il faut toujours garder à l'esprit que nous sommes face à une méchante grippe pour plus de 85% d'entre nous. La récupération de l'anosmie se fait en 10-30 jours () Reste à espérer le passage rapide vers un été non viral.

L'accès aux tests est désormais facilité en France avec l'arrivée des réactifs pour les gros automates (Abbott est à l'APHP depuis cette semaine) dans les laboratoires, y compris pour la détection des Immunoglobulines G, la participation des laboratoires privés et le développement des 30 plateformes 'du gouvernement' sur le territoire. Cela sera utile pour gérer la sortie de crise et de confinement. Repérer rapidement les cas persistants et les isoler. Ne tenez pas compte des TDR négatifs. Penser toujours à coupler PCR & Immunoglobulines pour un diagnostic efficace

Et comptons sur notre bonne vieille chance

ANNEXE

Qui Dépister :

- **Critères liés à la gravité induisant une hospitalisation** : patients présentant une symptomatologie respiratoire hospitalisés en réanimation et ceux avec des symptômes évocateurs de Covid-19 hospitalisés pour une pneumopathie avec signes de gravité. Patients hospitalisés pour une autre cause et devenant symptomatiques; donneurs d'organes, tissus ou de cellules souches hématopoïétiques; suivi de l'excrétion virale chez les patients graves de réanimation afin de guider le traitement ;
- **Professionnels de santé** avec des symptômes évocateurs de Covid-19 ;
- **Critères liés à la comorbidité** : personnes à risque (selon les critères définis par le HCSP) de formes graves et présentant des symptômes évocateurs de Covid-19.
- Femmes enceintes symptomatiques** quel que soit le terme de la grossesse
- **Critères liés à une situation** : exploration d'un foyer de cas possibles (en particulier en collectivités de personnes âgées). Au sein de ce type de collectivité, se limiter à 3 tests par unité ;

· Ne sont pas des indications prioritaires :

- " Exploration de cas possibles en collectivité (EHPAD ...) une fois que le diagnostic a été établi à 3 tests ;
- " Personne avec symptômes évocateurs vivant en contact rapproché avec une personne à risque de forme grave ;

Ne sont plus des indications de diagnostic

- " Forme paucisymptomatique évocatrice en phase épidémique
- " PCR de monitoring pour attendre la négativation chez des personnes atteintes et prononcer la guérison.

Comment dépister : RECOMMANDATIONS AUX PROFESSIONNELS DE SANTÉ EN CHARGE DES PRÉLÈVEMENTS DE DÉPISTAGE PAR RT-PCR

1. Problématique

- Fluidifier l'organisation instaurée à l'hôpital pour le dépistage par RT-PCR du SARS-CoV-2
- " Par la possibilité de recourir aux LBM privés pour effectuer le diagnostic sur des prélèvements effectués dans les établissements de santé ;

2. Priorisation des tests diagnostiques¹

1 Avis du 14 mars 2020 relatif à la prévention et à la prise en charge du COVID-19 chez les patients à risque de formes sévères et aux indications prioritaires du diagnostic par RT PCR
Les indications de RT-PCR pour recherche du virus SARS-CoV-2 ne concernent, en principe, que des **personnes symptomatiques**.

2.1. Indications prioritaires

- **Critères liés à la gravité induisant une hospitalisation** : patients présentant une symptomatologie respiratoire hospitalisés en réanimation et ceux avec des symptômes évocateurs de Covid-19 hospitalisés pour une pneumopathie avec signes de gravité. Patients hospitalisés pour une autre cause et devenant symptomatiques ; donneurs d'organes, tissus ou de cellules souches hématopoïétiques ; suivi de l'excrétion virale chez les patients graves de réanimation afin de guider le traitement ;
- **Professionnels de santé** avec des symptômes évocateurs de Covid-19 ;

- **Critères liés à la comorbidité** : personnes à risque (selon les critères définis par le HCSP) de formes graves et présentant des symptômes évocateurs de Covid-19. **Femmes enceintes symptomatiques quel que soit le terme de la grossesse** ;
- **Critères liés à une situation** : exploration d'un foyer de cas possibles (en particulier en collectivités de personnes âgées). Au sein de ce type de collectivité se limiter à 3 tests par unité ;
- Ne sont pas des indications prioritaires :
 - " Exploration de cas possibles en collectivité (EHPAD ...) une fois que le diagnostic a été établi à 3 tests ;
 - " Personne avec symptômes évocateurs vivant en contact rapproché avec une personne à risque de forme grave ;
- **Ne sont plus des indications de diagnostic**
 - " Forme paucisymptomatique évocatrice en phase épidémique
 - " PCR de monitoring pour attendre la négativation chez des personnes atteintes et prononcer la guérison.

3. Actions entreprises et préconisées pour fluidifier le diagnostic

- Élargissement du panel des moyens diagnostiques aux kits marqués CE (listés par l'ANSM) en sus du kit validé par le CNR ;
- Mise en place de circuits ambulatoires dédiés à l'hôpital, dans le respect des règles de bonne pratique afin de limiter les risques de contamination ;
- En vue de préserver les capacités hospitalières de diagnostic des patients visés au 1.1, il est préconisé de favoriser le dépistage des autres patients prioritaires (indications 1.2 à 1.4) par les LBM privés ;
- Permettre aux établissements Covid-19 ne disposant pas des capacités diagnostiques SARS-CoV-2 de recourir à des LBM privés.

4. Prescription du dépistage en laboratoire de biologie médicale de ville

- Le dépistage par un LBM de ville devra être prescrit par un médecin ; dans ce dernier cas la prescription peut être adressée par le médecin directement au laboratoire par tout moyen disponible (messagerie, fax...)
- La description des signes cliniques et des facteurs de risque devra accompagner la prescription pour permettre le déclenchement du dépistage par le biologiste afin de vérifier que les indications sont respectées.

Voir fiche « lignes directrices pour la prise en charge en ville des patients symptomatiques en phase épidémique COVID-19 »

5. Critères à respecter pour les laboratoires de biologie médicale

- Mise en oeuvre de la fiche de la Société française de microbiologie relative à la gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de Covid-192 ;
- Être accrédité ou dans la démarche d'accréditation ;
- Disposer des équipements matériels nécessaires à la mise en oeuvre des kits RT-PCR – attention délai de mise en place de 3 à 7 jours ;
- Utiliser des kits RT-PCR marqués CE avec 2 cibles minimum (liste des kits conformes validée par l'ANSM) ;
- Être en capacité de rendre les résultats en 24h maximum (délai comprenant prélèvement, transport et rendu du résultat) ;
- Disposer en propre d'IDE préleveurs ou avoir des conventions avec des IDEL.

6. Conditions de réalisation des RT-PCR

- Préleveur équipé d'EPI (masque FFP2, lunettes de protection, surblouse UU, charlotte UU, gants UU) ;
- Respecter les conditions de la fiche de gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect de COVID-19 de la Société française de microbiologie², dont le triple emballage souple pour le transport ;
- Prélèvement à domicile (notamment EHPAD), par un professionnel de santé habilité : biologiste ou IDE, le principe est d'éviter tout risque de contamination des LBM sous peine d'empêcher leur fonctionnement ;

· Prélèvement au sein d'une structure ambulatoire dédiée dans le cadre d'un circuit dédié permettant de respecter les recommandations de bonnes pratiques et sous réserve de revêtir les équipements de protection ad hoc (ex. : circuit isolé dans un centre de santé ou MSP, centre de prélèvement dédié, circuit dédié au sein d'un LBM, LBM dédié) :

" Les LBM en capacité physique et géographique de le mettre en place pourront ainsi créer un circuit ambulatoire pour accueillir des patients en véhicule selon le processus suivant ;

" Le prélèvement nasopharyngé peut être réalisé directement dans le véhicule du patient, fenêtre baissée, sur un site réservé ou il peut stationner. Les précautions qui doivent être prises consistent en une protection du préleveur habilité pour le faire (charlotte, masque, lunette et blouse et surblouse si non imperméable ou un tablier dessous) et comportant un système permettant une identification fiable du patient par un étiquetage du tube prélevé.

Voir fiche « prise en charge en ambulatoire du COVID-19 – recommandations aux professionnels de santé en charge des prélèvements de dépistage RT-PCR »

7. Délivrance des résultats

· Patient négatif : le biologiste médical communique le résultat au patient dépisté et au médecin prescripteur

· Patient positif : le biologiste médical

" Contacte le médecin prescripteur qui communique le résultat aux patients avec les consignes (rester à domicile, surveillance des signes cliniques, numéro de contact, consultation à domicile à J7, équipement de protection du patient, règles d'hygiène à domicile...) ; si aggravation, déclenchement du circuit hospitalier (hors champ de la présente fiche) ;

" Transmet les résultats positifs à la cellule de crise des ARS selon le système de déclaration en vigueur ;

" Le prélèvement et les renseignements cliniques doivent être transmis au Centre national de référence des virus des infections respiratoires dont la grippe pour que celui-ci remplisse ses missions de surveillance.

8. FACTURATION

L'inscription de la détection du génome du SARS-CoV-2 par RT-PCR (code acte 5271) a été ajoutée au chapitre 19 de la nomenclature des actes de biologie médicale prévue à l'article L.162-1-7 du code de la sécurité sociale par arrêté du 6 mars 2020.

Le dépistage du SARS-CoV-2 par RT-PCR fait l'objet d'une **facturation à l'acte** par le LBM à l'Assurance Maladie selon le circuit classique pour les actes de biologie impliquant la transmission des données Carte Vitale et mutuelle par le patient.

COMMENT FAIRE LE PRELEVEMENT :

Revoir les tutoriels dans le texte ci dessus

<https://www.youtube.com/watch?v=obN9nzewd90>

<https://www.youtube.com/watch?v=DVJNWefmHjE>

REALISER LE PRELEVEMENT

Les précautions d'hygiène recommandées pour la prise en charge d'un patient reposent sur le strict respect des précautions standards complétées par des précautions complémentaires de type « air » et « contact ».

1 Mode de Transmission

· Transmission interhumaine à SARS-CoV-2 se fait par :

" La projection de gouttelettes ;

" Un contact direct ;

" L'intermédiaire de surfaces souillées ;

" Aérosol possible lors de soins exposants.

· Le virus persiste jusqu'à 3 heures sur des surfaces inertes sèches et jusqu'à 6 jours en milieu aqueux · Sensibilités aux désinfectants usuels virucides: hypochlorite de sodium à 0.5%, acide peracétique/péroxyde d'hydrogène, éthanol ou isopropanol à 70%, glutaraldéhyde norme EN 14476. A utiliser suivant les recommandations du fabricant (concentration et temps de contact).

2 Prélèvement à réaliser chez un patient possible ou confirmé Covid-19

Le prélèvement que vous allez réaliser s'inscrit dans le cadre d'une prescription médicale.

2.1 Prélèvement à domicile

· Demander au patient de revêtir un masque chirurgical et l'informer de la nécessité des mesures de protection devant être prises (fiche patient)

· **Tenue recommandée pour le préleveur**

" Port d'un masque de protection type (APR) FFP2 en vérifiant l'étanchéité au visage (réalisation d'un fit check) pour tout personnel de santé habilité aux prélèvements avant d'entrer dans la chambre ;

" Sur-blouse à usage unique à manches longues ;

" Port systématique de lunettes de protection ;

" Port d'une protection complète de la chevelure (charlotte, calot couvrant...);

" Port de gants à usage unique.

· Réalisation du prélèvement

" Le prélèvement est réalisé par des personnels formés et équipés ;

" Prélèvement de type naso-pharyngé des voies respiratoires hautes par écouvillon de type Virocult, UTM ou Eswab (voir ci-dessus en mode déradé si écouvillon sec)

" La traçabilité du prélèvement doit être effectuée sur place (identification du patient et du prélèvement).

· Maitrise de l'élimination des déchets

" En cas de prélèvement réalisé au domicile du patient, les équipements de protection individuelle (EPI) doivent être retirés avant la sortie du domicile et éliminés en double emballage fermé, sauf pour les lunettes qui seront retirées après la sortie du domicile ;

" Les lunettes devront être nettoyées au moyen de lingettes désinfectantes virucides ou à l'eau de Javel 0,5% ;

" Réalisation avec une rigueur absolue des gestes d'hygiène des mains par friction hydro-alcoolique ou lavage des mains.

2.2 Prélèvement dans le cadre d'un circuit ambulatoire dédié et isolé

Exemples : circuit isolé dans un centre de santé ou une MSP, centre de prélèvement dédié, circuit dédié au sein d'un LBM y compris par organisation d'un « drive », LBM dédié

· Patient

" En cas d'organisation en « drive », le prélèvement naso-pharyngé peut être réalisé directement dans le véhicule du patient, fenêtre baissée, sur un site réservé où il peut stationner ;

" Le patient se présentant à pied devra être muni d'un masque chirurgical à son arrivée. S'il n'en dispose pas à son arrivée, un masque devra lui être remis dès son accès dans l'espace dédié. Il ne devra l'enlever que pour qu'il soit procédé au prélèvement naso-pharyngé.

· Tenue recommandée

" Protection du préleveur habilité (charlotte, masque FFP2, lunettes et blouse et surblouse si non imperméable ou un tablier dessous).

· Installation technique

" Le circuit dédié devra comporter un système permettant une identification fiable du patient par un étiquetage du tube prélevé, par connexion directe au système d'information du LBM lorsque cela est possible.

3 Conduite à tenir, en cas d'exposition accidentelle

En cas d'exposition accidentelle, vous devez respecter les recommandations aux professionnels de santé en contact avec des patients confirmés.

3 Conditionnement et conservation du prélèvement avant acheminement

Le prélèvement doit être conditionné dans un triple emballage souple s'il n'est pas acheminé directement au laboratoire de biologie médicale il doit être conservé à +4°C.

Transport des échantillons

- Il faut suivre les **recommandations de l'EOH** de protection individuelle pour la réalisation du prélèvement (incluant la double paire de gants, masque FFP2, charlotte, surblouse blanche, lunettes)
- Après réalisation du prélèvement respiratoire, le tube contenant l'écouvillon sera déposé dans un plateau
- Retirer la première paire de gants
- Désinfecter le prélèvement en le vaporisant de surfa' safe Premium® → temps de contact à respecter = 5 min.
- Ensuite, le tube sera ensuite placé dans un autre sachet sans contaminer l'extérieur du sachet.
- Fermer le sachet
- Mettre ce premier sachet dans un second sachet avec la prescription « SARS CoV2 »

Ne pas utiliser de système pneumatique ; En cas de transport à l'extérieur de l'établissement se conformer aux réglementations en vigueur

Recommandations du MARS (Message d'Alerte Sanitaire) du 7 mars 2020 et aux recommandations APHP Covid- 19 du 6 mars 2020, veuillez trouver ci- joint

1-Un rappel des restrictions concernant les visites des patients:

-Pas plus d'une personne par visite,

-Interdiction des visites pour les personnes mineures,

-Interdiction de visites pour toutes personnes présentant des symptômes.

2-L'ensemble des procédures disponibles sur intranet:

- [Consignes habillage lors de risque épidémique & biologique,](#) 04/03/20
- [Consignes déshabillage lors de risque épidémique & biologique,](#) 04/03/20
- [Prélèvements - Détection SARS-CoV2 \(COVID19\),](#) 04/03/20
- [Bionettoyage / Epidémie](#) COVID19
- [Gestion des déchets & du linge](#) COVID19
- [Actualisation du dispositif APHP,](#) 03/03/20
- [Pour se protéger et protéger les autres à l'hôpital](#)
- [Affiche Visiteurs / Protéger vos proches, reportez votre visite !,](#) 03/03/20
- [Affiche pour le port du masque](#)
- [Plaquette sur le Coronavirus : les bons gestes à adopter](#)

Les indications au port du masque (recommandations de l'EOH du siège APHP en date du 06/03/2020):

Qui porte un masque chirurgical?

} **Personne, soignant ou patient,** présentant des signes d'infection respiratoire : toux, rhume, syndrome grippal, avec ou sans fièvre...

NB : Les personnels sont vigilants pour s'assurer que tout patient qui présente des signes d'infection respiratoire porte un masque chirurgical.

} Personnels prenant en charge un patient qui présente des signes d'infection respiratoire, y compris les cas confirmés COVID-19.

} Personnels d'accueil en contact direct et rapproché des patients en l'absence de vitre de protection (entrée de l'hôpital, agents de la Gestion Administrative des Patients, services d'urgences, accueil des consultations, des HDJ et des services d'hospitalisation...

} Personnels identifiés comme contact d'un cas confirmé COVID-19 (dans les 14 jours qui suivent le dernier contact avec le cas), ou revenant d'une zone à risque.

} Personnels réalisant des actes en grande proximité avec la sphère ORL des patients : soins bucco-dentaires, examen ophtalmologique, examen ORL...

} Au cas par cas et en lien avec le service de santé au travail, personnels ayant une pathologie chronique.

} Patients immunodéprimés lors de consultations, HDJ ou déplacements dans l'hôpital.

Qui porte un masque FFP2?

Vérifier l'étanchéité : réaliser un fit-check

} Personnels réalisant des manoeuvres respiratoires à risque (exemple : prélèvement naso-pharyngé à la recherche de COVID-19, intubation, aspiration trachéale, VNI... à des patients confirmés COVID-19 ou cas possibles, notamment ceux présentant une détresse respiratoire aiguë non expliquée.

} Personnels travaillant en contact d'un patient en précautions « Air » : tuberculose, rougeole, varicelle.

Dans toutes les situations

} Ne pas toucher le masque une fois en place. Réaliser une FHA des mains avant la pose et après le retrait ;

} Désinfection des mains par friction hydro-alcoolique, avant et après chaque contact avec un patient ;

} Port de lunettes pour tout soin avec risque de projection oculaire de liquides biologiques ;

} Port de gants pour tout risque de contact avec des liquides biologiques et FHA dès le retrait des gants.