

Sérologie Covid-19

“ Il faut rester extrêmement prudent ”

Entretien avec **Laurence Bocket**, pharmacien-biologiste au Centre de Biologie-Pathologie-Génétique, service virologie, du CHRU de Lille.

✍️ Propos recueillis par Léa Galanopoulou

La Revue Pharma : Depuis le début de la pandémie, quels tests réalisez-vous dans votre service ?

Laurence Bocket : Nous effectuons les tests RT-PCR au CHU de Lille depuis le début de l'épidémie. Au début, nous recevions les prélèvements de toute la région « grand Nord », ville ou hôpital. Désormais, nos confrères des centres hospitaliers périphériques ainsi que certains laboratoires en ville sont en capacité de faire ces tests. Nous sommes néanmoins passés d'une centaine de tests journaliers à une production actuelle de 800 tests/jour. Les procédures de sécurité sont très strictes : tout prélèvement respiratoire pour un test Covid-19 doit être mis dans un triple emballage, avec le bon de demande à l'extérieur, et sera manipulé sous hotte, le personnel portant blouse, surblouse, masque et gants.

Expliquez-nous comment se passe en pratique la réalisation d'une RT-PCR.

Les prélèvements cellulaires respiratoires que nous recevons peuvent être de deux types : provenant des voies respiratoires supérieures, naso-pharyngées, ou plus inférieures, trachéales. Pour le Sars-CoV-2, il nous faut absolument du matériel cellulaire. La première étape consiste en l'extraction des acides nucléiques. Ceux-ci sont ensuite amplifiés par RT-PCR de façon spécifique pour repérer l'ARN du virus. Au début de l'épidémie, nous avons eu beaucoup de difficultés à nous fournir les réactifs

nécessaires au test : kits d'extraction d'acides nucléiques et d'amplification.

Quelle est la sensibilité de ces RT-PCR ? Sont-ils fiables ?

Lorsque ce test est fait dans les 7 jours qui suivent l'apparition des signes cliniques de Covid-19, nous obtenons généralement 70 % de tests positifs. Les faux négatifs sont souvent la conséquence d'un prélèvement mal fait, trop tardif ou trop précoce. Car la répllication virale varie en fonction du stade d'avancée de la maladie. Par exemple, nous savons que la gravité de l'infection Covid est plus liée à une dysimmunité qu'à une forte répllication virale. Ainsi, lorsque la maladie devient plus sévère, ce n'est pas toujours du fait de la répllication virale, mais davantage de l'importance de la réaction inflammatoire, et les tests RT-PCR peuvent être négatifs ! Enfin, la fiabilité va également varier selon le lieu de prélèvement : en fonction des signes cliniques, il peut arriver qu'un prélèvement naso-pharyngé soit négatif alors que le trachéal est positif.

Face à ces faux négatifs, comment établir avec fiabilité un diagnostic de Covid-19 ?

Comme pour toutes les pathologies, le diagnostic du Covid-19 doit se fonder sur un faisceau d'arguments : la clinique, l'anamnèse et la notion de contact, l'imagerie médicale, le cas échéant, et les résultats des tests moléculaires. Il ne faut pas hésiter lorsqu'une RT-PCR est négative, mais que les signes cliniques pointent vers le Covid, d'en refaire une dans les jours qui suivent. La recherche des anticorps anti-Sars-CoV-2 dans ce contexte de tests moléculaires négatifs sera intéressante.

Les tests sérologiques justement suscitent

beaucoup d'espoir dans la population. En réalisez-vous d'ores et déjà ?

Les tests sérologiques ont une double utilité : permettre de rattacher un épisode clinique au Sars-CoV-2 dans le cas où les

“ Lorsque ce test est fait dans les 7 jours qui suivent l'apparition des signes cliniques, nous obtenons généralement 70 % de tests positifs. ”

tests moléculaires sont restés négatifs, et idéalement prédire la protection, cet objectif n'étant pas encore atteint avec certitude sur nos tests actuels.

Aujourd'hui, oui, nous réalisons déjà des tests sérologiques dans notre laboratoire, grâce à deux méthodes. La première est un test de diagnostic rapide par immunochromatographie, à l'instar de ceux dont nous disposons pour le VIH : une « savonnette » sur laquelle nous déposons une goutte de sérum sanguin. La seconde technique sérologique utilisée est la méthode immunoenzymatique ELISA. Nos tests rapides vont détecter les IgM et les IgG, et nos tests ELISA, les IgG et les IgA.

Les IgM apparaissent précocement, au début de l'infection virale, et permettent simplement de dire que l'on a été en contact avec le virus à un instant T, alors que les IgG font leur apparition plus tardivement et, selon leur nature, pourront être marqueurs d'immunité.

Pourquoi ces sérologies ne sont-elles pas encore suffisantes pour certifier une immunité à terme ?

Effectivement, la HAS est très prudente quant à la fiabilité de ces sérologies. Nous connaissons encore mal la cinétique d'apparition et de disparition des anticorps et surtout leur caractère protecteur. Les sérologies utilisées en Allemagne, en Chine ou en Corée du Sud ne sont pas homologuées en France, car encore mal évaluées. On voit des patients avec des sérologies positives, qui sont toujours porteurs du virus. En somme, pour l'heure, nous n'avons pas assez de recul et nous ne pouvons pas dire à un patient qui a une sérologie positive de sortir, d'enlever son masque, de prendre des risques. Il faut rester extrêmement prudent.

Comment savoir si ces anticorps seront protecteurs ?

D'ici à quelques semaines, l'Institut Pasteur, centre de référence, promet l'arrivée de sérologies plus fiables (*voir encadré*). L'objectif est bien de détecter des anticorps neutralisants, pour affirmer qu'une immunité est atteinte. Par ailleurs, nous attendons également des sérologies plus spécifiques du Sars-CoV-2. Nous savons que c'est un virus à couronne, possédant des spicules. Il nous faut donc des tests repérant les anticorps dirigés spécifiquement contre ces spicules (S) : anticorps anti-S.

Est-il d'ores et déjà possible de faire une sérologie en ville ?

Oui, certains laboratoires d'analyse médicale réalisent déjà des sérologies, qui ne sont pas remboursées par l'Assurance maladie. C'est également pour ça que la HAS a publié dans la foulée des mises en garde car, encore une fois, il faut être très prudent ! Une sérologie positive ne signifie pas que vous êtes totalement protégés contre le Covid-19.

Les représentants de la profession, syndicats et groupements, prônent la mise à disposition de tests sérologiques dans les officines, qui pourraient tomber sous la coupe de la législation sur les Trod. Qu'en pensez-vous ?

Sur le principe, il n'y a pas de problème particulier à ce que ces autotests par immunochromatographie soient réalisés par les officinaux, comme ceux disponibles pour le VIH. Mais, une fois de plus, avec les mises en garde et la prudence qui s'imposent. Donc, pour le moment, avec les sérologies, nous pouvons seulement parler de valeurs prédictives positives de contact avec le virus, mais en aucun cas d'immunité. •

PASTEUR PLANCHE SUR DES SÉROLOGIES FIABLES

Fin avril, l'Institut Pasteur a publié les premiers résultats de travaux évaluant la fiabilité des tests sérologiques. La recherche se mobilise ainsi pour identifier un test fiable et la détection d'anticorps neutralisants.

Pour ce faire, les chercheurs ont analysé le sang de quatre groupes :

- **400 personnes prélevées avant l'épidémie, entre 2017 et 2019, pour évaluer la part de faux positifs**
- **51 patients Covid + et hospitalisés pour des formes sévères**
- **209 personnes ayant présenté des symptômes légers du Covid**
- **200 donneurs asymptomatiques, vivant dans l'Oise au moment de l'épidémie.**

RÉSULTATS

« **La séropositivité a été détectée chez 29 % des individus ayant présenté des signes légers compatibles avec le Covid-19 dans les 15 jours précédant les prélèvements et chez 3 % des personnes ayant donné leur sang** », indique l'Institut Pasteur. Chez les personnes hospitalisées, les anticorps font leur apparition à partir de 5 à 6 jours après celle des symptômes et « **possèdent une activité neutralisante dès 7-14 jours.** »

Les chercheurs ont ensuite étudié la fiabilité de quatre tests sérologiques. Ils précisent ainsi que le test ELISA S, détectant le domaine extracellulaire de la spicule du virus (S), est plus sensible que le ELISA N, ciblant la protéine N. Le test S-flow, qui détecte la protéine de la spicule dans sa conformation naturelle, est lui aussi très sensible. L'institut conclut : « **Nous avons comparé les performances de quatre tests d'identification d'anticorps anti-Sars-CoV-2. Globalement, ils fonctionnent très bien, avec des différences de sensibilité en fonction des tests et surtout des antigènes visés.** »

Test de séro-neutralisation en cours

La mise au point d'un test de séro-neutralisation, capable de mesurer la capacité des anticorps à bloquer l'entrée du virus dans les cellules, donne beaucoup d'espoir. Les équipes de Pasteur viennent de mettre au point un test de séro-neutralisation, « Lenti S ». « **Les équipes de recherche souhaitent adapter ce test pour qu'il soit adapté à très haut débit. D'autres travaux seront nécessaires pour déterminer le niveau des anticorps neutralisants susceptible de contribuer à la protection, et leur persistance dans le temps.** » Affaire à suivre donc.