

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et des Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de biologie



MÉMOIRE

Présenté par

Mangouchi Douaa Nor El Houda

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Biologie moléculaire et cellulaire

Thème :

Le profile sérologique des individus au cours du covid-19 et la pertinence des tests sérologiques et antigéniques

Soutenu 12/07/2021

Encadrent	Mme Dali youcef M	Pr	Université de Tlemcen
Examinatrice 1	Mme Medjati N	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice 2	Mme Guemouche B	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2020/2021

Remerciement

Louange à Allah par le bienfait duquel les bonnes choses se concrétisent, « el hamdoulilah »

Tout d'abord je ne trouve pas les mots pour exprimer ma gratitude envers Madame Dali Sahi M, professeur à l'université de Tlemcen, mon encadrante de ce travail. Ses conseils et ses encouragements ont permis à ce travail d'aboutir. Ses capacités scientifiques et ses compétences étaient mon grand support. Faire ma thèse de fin d'étude sous sa direction était pour moi un grand honneur et un immense bonheur.

Je désire aussi remercier Mme Dennouni Medjati N, maître de conférences A à l'Université de Tlemcen, qui m'a fait l'honneur d'accepter d'être Examinatrice 1 de ce mémoire. Je vous remercie infiniment de tout ce que vous m'a enseigné durant ces années.

Je remercie Mme Guermouche B maître de conférences A à l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté d'être membre du jury. C'est un honneur pour moi votre présence Madame.

Je n'oublie surtout pas Mr Kachekouche Youssouf qui m'a consacré le temps de son travail pour m'aider. Merci beaucoup pour votre temps.

Je voudrais exprimer ma reconnaissance envers les amies et collègues qui m'ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de ma démarche.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ma source lumineuse dans ce monde :

Mon père, ma mère pour leurs amours, leurs sacrifices, leurs encouragements et soutien. Puisse Dieu prolonger leurs vies et m'aider à rendre un tout petit peu de ce qu'ils font pour moi.

Je dédie également à :

Mes frères Ilyas et sa femme Jihane ,Louay et ma sœur Rawnak

Mon grand-père, mon oncle Alaa

Mes collègues de la promotion Bouizam Fatima Zohra et Merad Boudia

Meriem Nihel

A ceux que j'aime

Liste des tableaux

Tableau I: les données descriptives de la population testées par le test sérologique	18
Tableau II:les données descriptives de la population testées par le test antigénique.	19
Tableau III:les données descriptives de la population testées par le test RT-PCR.	21
Tableau IV:Modèle logistique pour les tests sérologiques.	22
Tableau V:Mesure d'association:(entre la variable de réponse et les prévisions de probabilité).....	22
Tableau VI:Modèle logistique pour les tests antigéniques.	23
Tableau VII: Mesure d'association:(entre la variable de réponse et la prévisions de probabilité).	24
Tableau VIII:Modèle logistique pour les tests de RT-PCR.....	24
Tableau IX: Mesure d'association:(entre la variable de réponse et les prévisions de probabilité).	25

Liste des abréviations

ACE2 : Enzyme de conversion de l'angiotensine 2

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNase :désoxyribonucléase

ARN : Acide ribonucléique

ARNase :ribonucléase

C : Cytosine

CDC : Centres for Disease Control and Prevention

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

COVID-19 : Maladie à Coronavirus 2019

Ct : Valeur seuil de cycle

ELISA: Dosage immuno-enzymatique

Enveloppe E : Protéine E

Hemagglutinin esterase HE:Protéine multifonctionnelle de l'enveloppe virale

IC : Intervalle de confiance

IgA : Immunoglobuline A

IgG : Immunoglobuline G

IgM : Immunoglobuline M

Matrice M : Protéine M

MERS-CoV : Coronavirus lié au Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient

N501Y:position du 501e acide aminé de la protéine S

NP :Nasopharyngé

Nucléocapside N : Protéine N

OMS : Organisation mondiale de la Santé

OP :Oro-pharyngé

OR :Odd Ratio

ORF: cadre de lecture ouvert

P : P-value

PCR : Polymerase Chain Reaction

Protéine S : Protéine de pointe (spike)

PRRA :motif de séquence

qRT-PCR : Quantitative Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

R0 : Nombre de reproduction de base ou taux de reproduction de base

RBD : Receptor-Binding Domain

RdRp: polymérase ARN ARN-dépendante

RTC: complexe réplication-transcription

RT-PCR : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

S1 : Sous-unité 1 de la protéine S

S2 : Sous-unité 2 de la protéine S

SARS-CoV-2 : Coronavirus lié au Syndrome Respiratoire Aigu Sévère -2

T : Tyrosine

TROD : Test d'orientation diagnostique

2019-nCoV : 2019 Nouveau Coronavirus

Table des matières

Liste d'abréviation

Liste des tableaux

1	Introduction générale :	2
2	Matériel et méthodes	14
2.1	Population d'étude :	14
2.2	Sources et type des informations :	14
2.3	Méthodologie :	14
2.3.1	Principe du test sérologique :	14
2.3.2	Pincipe de test antigénique :	14
2.3.3	Principe du test RT-PCR :	14
2.4	Critères de sélection des sujets atteints :	15
2.5	Critères de sélection des sujets non atteints :	15
2.6	Analyse statistique :	15
3	Résultats et interprétations :	18
3.1	Description de la population :	18
3.1.1	Données du test sérologique :	18
3.1.2	Données du test antigénique :	19
3.1.3	Données du test RT-PCR :	20
3.2	Régression logistique :	21
3.2.1	Régression logistique du test sérologique :	21
3.2.2	Régression logistique des tests antigéniques :	23
3.2.3	Régression logistique des tests de RT-PCR :	24
4	Discussion :	27
5	Conclusion :	31
	Références bibliographiques	33
	Annexe	43

Résumé :

De nombreux tests de diagnostic permettant le dépistage de la Covid-19. L'objectif de cette étude est de déterminer la pertinence des tests de diagnostic utilisés en fonction du sexe, âge et la saison. Notre étude a été effectuée au niveau de la Wilaya de Tlemcen (extrême ouest Algérien) sur une population composée de patients atteints de la covid-19 et non atteints, les données ont été recueillies auprès du service covid-19 de CHU de Tlemcen et deux laboratoires privés. Les femmes sont plus susceptibles à la covid-19, quant au test RT-PCR (OR=11,06 ; 95% IC=10,17-12,03 ; p=0,0001) et au test sérologique (OR=1,58 ; 95% IC=1,16-2,16 ; p=0,004), la sensibilité des tests RT-PCR, antigénique et sérologique varie selon succession saisonnières : été (OR=2,09 ; 95% IC=1,92-2,27 ; p=0,0001), automne (OR=2,09 ; 95% IC=1,92-2,27 ; p=0,0001), et hiver (OR=2,94 ; 95% IC=2,13-4,05 ; p=0,0001). Le sexe féminin et l'hiver, été et automne peuvent influencer l'efficacité des tests de diagnostic du SARS-CoV-2.

Introduction Générale

1 Introduction générale :

A la fin de l'année 2019, la ville de Wuhan, dans la province du Hubei en Chine, a enregistré les premiers cas d'une pneumonie due au nouveau coronavirus 2019, C'est aujourd'hui l'une des épidémies virales émergentes et réémergentes dans le monde. Les épidémies précédentes de coronavirus incluent l'épidémie de syndrome respiratoire aigu sévère (SARS)-CoV en 2003 (**Lau SK, et al.,2012**) et le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS)-CoV en 2012 (**Zaki AM,et al.,2012**) tandis que le nouveau coronavirus émergent, initialement appelé 2019- nCoV et par la suite appelé Sars-Cov 2, la maladie qu'il produit a été appelée COVID-19, qui provoque une infection respiratoire et peut évoluer vers une pneumonie sévère et, dans un petit nombre de cas, la mort (**OMS,2020**). Bien que ces coronavirus aient été isolés de différents hôtes humains et animaux à différents moments et lieux, ils appartiennent tous à l'espèce coronavirus lié au syndrome respiratoire aigu sévère. (**Perlman S. 2020, Hui DS et Zumla, A, 2019**).

L'OMS a déclaré la Covid-19 comme une pandémie Le 12 mars 2020 (**OMS, 2020**). En quelques semaines, le virus a causé des milliers de décès dans le monde entier, impactant fortement l'économie mondiale et les habitudes humaines.

Fin septembre, plus de 33 millions de cas de Covid-19 ont été déclarés, dont plus d'un million de décès (**données du Center For Engineering de la John Hopkins University**)

Le taux de mortalité spécifique de la Covid-19 est variable. (**Wu Z, McGoogan JM, 2019**). Alors que le taux global est d'environ 2,3%, il atteint 8,0% et 14,8% chez les patients âgés, respectivement, de 70 à 79 ans et ≥ 80 ans. (**Wu Z, McGoogan JM, 2019**).

En Algérie, le premier cas de Covid-19 a été déclaré le 25 février 2020(**communiqué de presse du, 2020**), il s'agit d'un ressortissant italien, travaillant dans un champ pétrolier à Ouargla (région sud), venant de la Lombardie, une des régions d'Italie les plus touchées par la pandémie

Le Sars-Cov 2 est un β -coronavirus, qui est un virus à ARN positif enveloppé non segmenté (sous-genre sarbecovirus, sous-famille des Orthocoronavirinae). Un virion de forme sphérique avec un génome viral à ARN à brin positif de 30 kb qui est traduit en protéines structurelles et non structurelles. La glycoprotéine spike est un homotrimère présent à la surface du coronavirus qui joue un rôle essentiel dans la reconnaissance du récepteur de surface de la cellule hôte humaine, l'enzyme de conversion de l'angiotensine-2 (ACE-2 est une enzyme liée à la face externe des membranes plasmiques de cellules du poumon, des artères, du cœur, du rein et de l'appareil digestif). (Zhang H, et al., 2020 ; Hamming et al 2004).

Cette reconnaissance est nécessaire à la fusion des membranes cellulaires virales et de l'hôte pour le transfert de la nucléocapside virale dans les cellules hôtes. l'originaire Le Sars-Cov 2 des chauves-souris (Zhou P et al.,2020) .Et ensuite transmis à l'homme par le pangolin comme un espèce hôte intermédiaire. Aussi ce virus peut pénétrer dans l'organisme par contact avec les yeux, nez, bouche avec des mains contaminée, par inhalation de gouttelettes d'un patient où le taux de reproduction de base (R_0) compris entre 2 et 4.(Liu Y et al.,2020) ,ce qui signifie un potentiel de contagiosité d'un agent infectieux, contamine en moyenne deux à quatre autres personnes. le délai d'incubation se varie entre deux a quatorze jour. Or l'étude de Guan et al, réalisée sur un large échantillon, a suggéré une moyenne de trois jours, avec un extrême arrivant à 2 jours. (Backer J.A et al,2020)

Le pathogène Sars-Cov 2 pénètre dans une cellule hôte pour pouvoir se multiplier comporte les étapes d'attachement, de pénétration et décapsidation puis les synthèses des macromolécules (acides nucléiques et protéines) selon trois phases : précoce-immédiate, immédiate et tardive. Ces synthèses vont permettre l'assemblage des nucléocapsides puis l'enveloppement et la libération des virions infectieux en même temps qu'une lyse de la cellule infectée.

L'attachement de virus est spécifiquement au récepteur de la cellule sensible grâce à une interaction de haute affinité entre la protéine S virale et l'ACE2 (Angiotensin-converting enzyme), récepteur cellulaire de l'hôte. Alors, La protéine spike comprend une sous-unité S1 N-terminale et une sous-unité S2 C-terminale, proche de la membrane et la sous-unité S1 est constituée des domaines S1A, S1B, S1C et S1D. Le domaine S1A, appelé domaine N-terminal

(NTD), reconnaît les glucides, tels que l'acide sialique, essentiel à la fixation du virus à la surface de la cellule hôte. Le domaine S1B, appelé domaine de liaison au récepteur (RBD) de la protéine de pointe du Sars-Cov 2 interagit avec le récepteur humain ACE-2. Les éléments structurels de la sous-unité S2 comprennent trois longues hélices α , de multiples segments α -hélicoïdaux, des feuillets β tordus étendus, une hélice α couvrant la membrane et un segment intracellulaire riche en cystéine. Le motif de séquence PRRA situé entre les sous-unités S1 et S2 du Sars-Cov 2 présente un site de clivage par la furine. Dans la sous-unité S2, un second site de clivage protéolytique S2', en amont du peptide de fusion est présent. Ces deux sites de clivage participent à l'entrée virale dans les cellules hôtes. Ainsi, l'ARN viral est libéré dans le cytoplasme. Le complexe réplication-transcription (RTC) assure la réplication du génome, la synthèse des protéines. Les protéines de structure s'auto-assemblent en capsomères puis en nucléocapside par intégration du génome répliqué. Formation de bourgeons, les vésicules contenant les virions fusionnent avec la membrane plasmique pour être libérées. (**Amir, I. J, et Lebar, Z, 2020**)

Dans le cas d'une infection par Sars-Cov 2, le système immunitaire active d'abord la première ligne de défense. L'immunité innée s'appuie notamment sur les cellules immunitaires qui peuvent détruire le virus de manière non spécifique, puis l'immunité adaptative, qui est la deuxième.

Les humains fabriquent des anticorps spécifiques au SRAS-CoV-2, des cellules CD4 + T et des cellules CD8 + T en réponse à l'infection par le SRAS-CoV-2 (**Grifoni et al., 2020 ; Krammer, 2020 ; Stephens et McElrath, 2020**) . Les anticorps, les cellules CD4 + T et les cellules CD8 + T peuvent avoir chacun un rôle protecteur dans le contrôle des infections virales, mais ces rôles et l'importance de chaque composante de l'immunité adaptative varient en fonction de l'infection virale. Dans certaines infections, l'une des trois branches de l'immunité adaptative est d'une importance critique pour le contrôle de l'infection virale et la survie de l'hôte.

les réponses des lymphocytes T sont détectées après presque toutes les infections au SRAS-CoV-2 (**Grifoni et al., 2020 ; Rydyznski Moderbacher et al., 2020 ; Peng et al., 2020 ; Sekine et al., 2020**). Les réponses des cellules CD4+T au SRAS-CoV-2 sont plus importantes que les réponses des cellules CD8+T (**Grifoni et al., 2020 ; Sekine et al., 2020**), l'association

au contrôle de l'infection primaire par le SRAS-CoV-2 (**Rydyznski Moderbacher et al., 2020**). Les lymphocytes T spécifiques de toute protéine virale peuvent être pertinents pour l'immunité protectrice. Néanmoins, il existe un intérêt particulier pour les réponses des lymphocytes T contre la protéine Spike du SRAS-CoV-2 (« Spike »), car presque tous les vaccins candidats COVID-19 contiennent exclusivement Spike (**Krammer, 2020**). De plus, l'induction d'anticorps anti-Spike dépend des cellules CD4 + T spécifiques de Spike, avec des contributions possibles de cellules CD4+T spécifiques d'autres protéines structurales du virion (**Crotty, 2015 ; Elsayed et al., 2018**).

Des mutations de l'ARN (dans le cas des virus à ARN) au cours de réplication, aboutissant à la modification de l'acide aminé correspondant sur la protéine codée par le gène muté.

Ces mutations peuvent aboutir à une substitution (un acide aminé en remplace un autre), une délétion (un acide aminé disparaît), une insertion (un nouvel acide aminé est introduit dans la protéine), une duplication (un acide aminé est anormalement répété), etc.

La lignée c'est le devenir des mutations dans le temps que l'on peut considérer comme des branches dans l'arbre généalogique de Sars-Cov 2. Le variant c'est un groupe de virus partageant un même ensemble de mutation .la souche est l'ensemble suffisant de mutations qui s'accumulent chez un variant de telle manière que celui-ci commence à se conduire d'une manière particulière, aussi présentant une transmissibilité aggravé

Les variants du Sars-Cov 2. L'un des événements majeurs de ces derniers mois, c'est l'apparition de nouveaux variants du Sars-Cov 2. Bien que les coronavirus présentent moins de mutations que la plupart des virus à ARN, les mutations sont habituelles, et liées à des erreurs dans le code génétique survenant au cours de la réplication. La première mutation préoccupante du Sars-Cov 2 a été détectée en mars 2020, et était liée au remplacement d'un acide aminé de la protéine Spike du virus, situé en position 614. Les mutations affectant la protéine Spike sont suivies avec grand intérêt en raison de leur potentiel d'impact sur la transmission et la diffusion du virus (**Lauring et Hodcroft, 2021**). Les virus porteurs de cette mutation sont rapidement devenus la forme dominante à l'échelle mondiale en juin 2020, et de nombreuses études ont confirmé que ces variants sont plus infectieux que les lignées Initiales (**Korber et al., 2020**). En expliquant La substitution D614G était accompagnée de trois autres mutations : une mutation de

C à T dans la région 5' non traduite en position 241, une mutation synonyme de C à T en position 3037 et une mutation non synonyme de C à T en position 14408 dans le gène de l'ARN polymérase ARN-dépendante. L'association des substitutions d'acides aminés des pics avec la transmissibilité du coronavirus a suggéré que la substitution D614G était critique pour ce balayage sélectif putatif. La corrélation de cette mutation avec des charges d'ARN viral nasopharyngées plus élevées chez les patients atteints de COVID-19.

Vers la fin 2020, un nouveau variant de SARS-CoV-2 dénommé B.1.351 dans l'est de l'Afrique du Sud (**Tegally et al., 2020**). L'une des mutations de ce variant, portant sur l'acide aminé 501 (N501Y), est située dans l'important domaine de liaison au récepteur (RBD) de la protéine Spike ; cette mutation devrait augmenter la liaison du virus aux cellules humaines (ACE2) (**Greaney et al., 2021**). Des études préliminaires proposent que ce nouveau variant est combiné à une charge virale plus élevée, ce qui présente une augmentation de sa transmission. Par ailleurs, à ce niveau de nos connaissances, il n'existe pas de preuve évidente que ce nouveau variant soit associé à une plus grande rigueur de la maladie. En revanche des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre l'enjeu de cette mutation N501Y sur la transmission virale, la gravité clinique de l'infection et les mesures préventives spécifiques. Aussi il est nécessaire d'effectuer des vérifications sur les performances des tests de laboratoire sur ce variant.

Cette mutation N501Y est également retrouvée chez d'autres variants identifiés soit pour la première fois au Royaume-Uni pour l'un (B.1.1.7). (**Tegally et al., 2020**) soit au Brésil pour l'autre (P.1) (Faria et al., 2020). La lignée du variant B.1.1.7 qui se propage rapidement dans les pays européens est plus transmissible, avec un taux de croissance qui a été estimé de 40 à 70% supérieur à celui des autres lignées du Sars-Cov 2. Cela est principalement dû à la mutation N501Y dans la RBD qui augmente la liaison du Sars-Cov 2 aux cellules humaines. (Volz et al., 2021). Alors que, les mutations signalées pour ce variant préoccupant ne semblent pas affecter les performances des tests covid-19 de type PCR ou par les performances des tests de laboratoire sur antigéniques. Mais les questions posées le variant P.1 restent posées.

On constate que la lignée B.1.351 apparu à l'est de l'Afrique de sud est la lignée P.1 (B.1.1248) semblent proche du fait qu'elles favorisent la transmission et la résistance aux

anticorps. Concernant la lignée B.1.3.5.1 du variant 501Y V2, présente 13 mutations dont 8 sont sur la protéine S(Spike), parmi ces 8 mutations, il existe le N501Y et K417N qui semblent améliorer la liaison entre la protéine Spike et le récepteur ACE2 des cellules cibles. Aussi E484K en changeant la forme de la protéine Spike pourrait permettre au virus d'échapper d'une manière partielle aux anticorps provenant d'une infection ou d'une vaccination par la protéine Spike. Comme la lignée B.1.17, B.1.351 paraît plus facilement transmissible puisqu'elle représente plus que 90% des infections indiquées dominante sur d'autres lignées. Sachant bien que cette lignée existe d'une manière significative en Amérique de Nord et en Europe. A noter que le B.1.17 présente quant à elle 19 mutations dont 8 aussi sur la protéine S (spike).

A cause de la propagation rapide et fatale du virus, la recherche mondiale a été mobilisée sur tous les fronts. Très rapidement, des avancées importantes ont été réalisées dans le domaine de la physiopathologie de la maladie, de la mise au point de vaccins, de traitements et pour le développement de tests diagnostiques. Compte tenu Vu la non spécificité des symptômes cliniques liés au COVID-19, le diagnostic de virus repose sur des outils radiologiques et biologiques. Ces derniers peuvent être directs basés sur l'identification du virus en détectant l'ARN viral (Diagnostic moléculaire) ou les protéines virales (Tests antigéniques), ou indirects basés sur la détection des anticorps anti SARS CoV2 développés après l'infection (Tests sérologiques). **(Udugama B et al ,2020)**

Le test de référence de dépistage du Sars-CoV-2 repose sur la détection de l'ARN viral par RT-PCR sur prélèvements nasopharyngés (NP), dont les performances seraient meilleures que sur prélèvements oro-pharyngés. (OP)

Le dépistage de l'infection virale se fait par les écouvillons NP et/ou OP. Etant donné sa meilleure tolérance par le patient et sa plus grande innocuité pour le préleveur, le prélèvement NP est préférable. De plus, ce type de prélèvement atteint préférentiellement la zone correcte à tester ce qui explique sa meilleure sensibilité (63%) en comparaison avec les prélèvements OP (32%). **(Wang Wet al .,2020).**

La technique de réalisation du prélèvement NP est d'une importance capitale. L'écouvillon doit être introduit en profondeur dans la cavité nasale et doit susciter un larmoiement. Le fléchissement des patients indiquera que l'écouvillon a atteint la cible. Les prélèvements OP

doivent susciter un réflexe nauséux, mais une grande variabilité de réponse existe entre les patients. Les écouvillons doivent être maintenus en place pendant 10 secondes en les faisant pivoter trois fois. Les écouvillons doivent être constitués de fibres synthétiques floquées non toxiques. (Cheng MP et al.,2020). Les écouvillons contenant de l'alginate de calcium, du bois ou du coton doivent être évités car ils peuvent contenir des substances inhibant la réaction de PCR. **(Cheng MP et al,2020).**

L'ARN viral détecté par RT-PCR en temps réel se fait en plusieurs étapes : une étape d'extraction du matériel génétique du virus (ARN viral) manuelle ou automatisée, une étape de rétro transcription de cet ARN en ADN complémentaire (RT-PCR) en utilisant une rétrotranscriptase), après l'amplification en temps réel de cet ADNc en plusieurs copies permettant sa détection (PCR en temps réel ou PCR quantitative = qPCR). Afin d'extraire l'ARN du virus, une étape de lyse chimique doit être réalisée sous PSM2 en utilisant un tampon de lyse, contenant des agents inactivateurs à base de sels de guanidinium (Dénaturant aussi les ARNses et ADNses) ainsi que des détergents non dénaturants. Cette étape permettra une désorganisation de l'architecture virale (Enveloppe, membrane et nucléocapside) permettant ainsi la libération de l'ARN viral. Un ARN carrier est ajouté dans la plupart des kits commerciaux afin d'optimiser le rendement, surtout lorsque les charges virales sont faibles dans l'échantillon de départ. L'ARN viral libéré sera retenu grâce à sa fixation sur des particules de silice, tapissant une colonne chromatographique ou des billes magnétiques selon le kit fourni. Cette étape de lyse sera suivie par plusieurs étapes de lavage et enfin d'élution qui permettra la récupération de l'ARN viral. **(The Laboratory Diagnosis of COVID-19 Infection,2020)**

Plusieurs cibles moléculaires du virus peuvent être utilisées dans les tests RT-PCR. Elles incluent les protéines structurales : Glycoprotéines de l'enveloppe S (Spike), l'enveloppe (E), la matrice (M), l'hémagglutinine estérase (HE) et la nucléocapside (N), ainsi que les gènes nécessaires à la réplication virale : l'ARN polymérase ARN dépendante (RdRp), l'hélicase (Hel), ainsi que les cadres de lecture ouverts « ORF, Open Reading Frames » ORF1a et ORF1b. **(Cui Jet al., 2020 ;Chan JF-W,et al ,2020)**. Aux Etats Unis, le CDC (Centres pour le contrôle et la prévention des maladies) recommande deux cibles : les protéines de la nucléocapside N1 et N2. **(Holshue ML et al,2020)**, alors que l'OMS recommande de faire un premier dépistage avec le gène E suivi par une confirmation avec le gène RdRp.**(Corman VMet al,2020)** .

Pour réduire le délai de réponse, d'autres techniques de PCR sont disponibles et permettent de raccourcir la durée de l'analyse ; il s'agit des PCR automatisées en circuit clos (système de cartouche) avec un résultat obtenu en moins d'une heure pour certains. C'est une technique qui présente une bonne spécificité et une sensibilité acceptable, qui est simple et qui peut facilement être réalisée dans les laboratoires

On peut considérer même que les techniques PCR sont "excessivement sensibles" pour établir la contagiosité car elles sont capables de détecter des charges virales très faibles. (Vogels et al., 2020). La contagiosité du patient peut être largement suggérée pour des charges virales suffisamment importantes, correspondant à des concentrations d'ARN viral supérieures à 100 copies d'ARN/ml, et à des valeurs de seuils de cycle (Ct) inférieures à 32 (La Scola et al. 2020). C'est pourquoi, pour être facilement interprétables, les résultats de tests PCR doivent inclure les valeurs seuils de cycle (Ct), qui sont une estimation biologique de la charge virale (Kahn et al., 2021).

Par ailleurs, l'utilisation massive de ces techniques a généré quelques problèmes liés à la disponibilité des laboratoires, au retard dans la notification des résultats et au coût des analyses.

Le Sars-Cov 2 subit de constantes mutations et de nouveaux variants apparaissent qui provoquent aussi la maladie. Ces mutations dans les séquences génétiques virales peuvent modifier les performances des tests de diagnostic viral. Les tests de recherche de séquences d'acide nucléique (c'est-à-dire la PCR) ciblent principalement plusieurs séquences dans les zones les plus conservées du génome du Sars-Cov 2 et non pas dans le gène codant pour la protéine Spike qui présente les principales mutations signalées dans ces trois derniers variantes. Par conséquent, on ne s'attend pas à ce que les performances des tests PCR soient affectées, la grande majorité des pays exigent un test PCR négatif à l'entrée sur leur territoire.

Afin d'étendre le diagnostic au dépistage à grande échelle de la population, d'autres tests dits rapides ont été proposés. Il s'agit principalement de tests sérologiques de détection d'anticorps anti-SARS-Cov-2 ou de tests de détection d'antigènes viraux. Donc, le test rapide pour le diagnostic du SRAS-CoV-2 permet une détection qualitative des IgG et/ou des IgM dans le sérum, le sang total ou le plasma humains en 10 à 15 minutes environ. Ces tests ont un énorme

potentiel pour l'épidémiologie du COVID-19 mais les résultats des tests peuvent être affectés par au moins trois situations (**John Hopkins center for health security,2020**)

- Un sous-groupe de sujets avec un résultat positif des tests moléculaires (RT-PCR) pour le Sars-Cov 2 sont séronégatives en raison du retard dans la production d'anticorps après l'infection,
- les sujets peuvent être séropositifs mais négatifs pour les tests moléculaires reflétant la clairance d'une infection plus précoce et plus bénigne, sensibilité et spécificité limitées des dosages.
- Le dernier problème est particulièrement important car même un petit pourcentage de résultats faussement positifs en raison d'une faible spécificité peut conduire à une prévalence prédictive trompeuse des anticorps dans une population donnée.

Les techniques sérologiques repèrent généralement les anticorps dirigés contre la protéine S et/ou la protéine N, il y a les tests sérologiques reposant sur la méthode immuno-enzymatique, qui permettent d'examiner un nombre élevé de sérums, certains d'entre eux mettant en évidence différents isotypes d'anticorps (IgM, IgA, IgG) et d'autres, uniquement les IgG ; ils peuvent être adaptables sur des automates d'analyses. Cette méthode est analysée avec l'Elisa, c'est une technique de micro puits sur plaque conçue pour détecter et quantifier des substances telles que des peptides, des protéines, des anticorps et des hormones. Le test peut être qualitatif ou quantitatif, et le délai d'obtention des résultats est généralement de 1 à 5 heures. Dans le cas du Sars-Cov 2, les puits de plaque sont généralement recouverts d'une protéine virale. S'ils sont présents, les anticorps antiviraux dans les échantillons de patients se lieront spécifiquement, et le complexe anticorps-antigène lié peut être détecté avec un anticorps conjugué supplémentaire pour produire une lecture colorimétrique. (**BERKANI, L. M et al**). Ce test est plus rapide avec une capacité de tester plusieurs échantillons et est adaptable à l'automatisation pour un débit accru, mais peut être variable en sensibilité.

Alors que d'autres tests reposent sur la méthode immuno-chromatographique, qui sont réalisés de façon unitaire en moins de 15 minutes et qui, pour certains, détectent séparément les anticorps des classes IgM et IgG et pour d'autres, que les IgG ou des anticorps totaux ; ces tests, de type TROD (Test D'Orientation Diagnostique) peuvent être exécutés en dehors d'un laboratoire de biologie médicale à partir de sérum ou de sang total .En expliquant que lorsque le

virus entre dans les cellules hôtes, le Sars-Cov 2 provoque le système immunitaire adaptatif dans le corps de l'hôte. 3 à 6 jours après l'infection, les anticorps IgM seront produits, tandis que les anticorps IgG seront générés 8 jours après l'infection. Ainsi, ces anticorps contre le Sars-Cov 2 peuvent être détectés dans le sang du patient. De plus, les IgM tendent à être des indicateurs de l'exposition récente au virus, tandis que les IgG indiquent une infection virale plus précoce.

Aussi des tests rapides de neutralisation déterminent la capacité d'un anticorps à inhiber l'infection virale des cellules dirigés contre la protéine de nucléocapside N et le domaine de liaison au récepteur de la protéine de surface S ont été associés à une activité de neutralisation.

(**R. W. Peeling et al ,2020 ; K. K.-W. To et al.,2020 ; W. Liu et al., 2020**) .

La détection des anticorps neutralisant peuvent être environ 7 jours après le début des symptômes et augmenteront fortement au cours des 2 semaines suivantes

Plusieurs études ont montré que les patients peuvent rester ARN-positifs malgré des concentrations élevées en anticorps IgM et IgG dirigés contre la protéine N et le domaine de liaison au récepteur de la protéine S. (**R. W. Peeling et al.,2020 ;J. Zhao et al.,2020**).

Dans l'étude de Zhang et al, parmi les patients présentant des concentrations élevées d'IgG, une proportion plus élevée présentait une maladie grave comparée à ceux qui présentaient de faibles concentrations d'IgG (52% contre 32%). (**B. Zhang et al., 2020**). Pour le moment on ne dispose d'aucune étude sur les performances des tests sérologiques pour la détection des variants.

Les tests antigéniques sont également des méthodes de diagnostic direct, avec l'avantage d'obtenir le résultat en quelques minutes. La simplicité et le faible coût de ces tests permettent de les des cas-contacts ou des cas asymptomatiques, car en général les niveaux de charge virale sont répéter plusieurs jours de suite dans certains contextes cliniques. La sensibilité des tests de détection d'antigènes est généralement plus faible que celle des tests d'acide nucléique, bien que leur spécificité soit comparable. La sensibilité des tests de détection antigénique est de 98 % pour des Ct mesurées en PCR ≤ 25 , et de 57 % pour des valeurs de Ct ≥ 30 . Selon ces données, les tests antigéniques permettent d'identifier les personnes infectées par le SARS-CoV-2 avec une charge virale élevée ; ils ont permettent de retrouver les personnes contagieuses, mais ne seraient pas adaptés à l'étude faibles chez ces personnes (**Toptan et al., 2021**) .

D'après, le protocole pour l'organisation de compétitions de BMX Racing et BMX Freestyle dans le contexte de la pandémie de COVID-19, une étude récente a conclu que cinq tests antigéniques rapides du SRAS-CoV-2 étaient capables de détecter le variant B.1.1.7 qui est apparue au Royaume-Uni (mutation N501Y) (Candel FJet al ., 2020) . Toutefois, à ce jour, on ne dispose d'aucune étude sur les performances des tests antigéniques pour la détection des autres variants (c'est à-dire le variant B.1.351 apparu en Afrique du Sud, avec les mutations E484K et N501Y, et le variant B.1.1.248 apparu au Brésil, avec 13 mutations dont K417T, E484K et N501Y).

Notre objectif principal dans cette étude est de pouvoir prouver la fiabilité des tests de diagnostic qui servent à la détection du Sars-CoV 2, cela nous permet de cerner le taux de personnes atteintes, par ailleurs, à préserver les personnes sains du fait que celles touchées seraient dans l'obligation de suivre le protocole de confinement et que le taux de l'atteinte pourrait être réduit.

Matériel et Méthodes

2 Matériel et méthodes

2.1 Population d'étude :

Notre travail se base sur une étude analytique cas témoins, menée dans la Wilaya de Tlemcen (nord-ouest Algérien), sur un échantillon de 15358 sujets dont 5205 atteints et 10153 non atteints de la covid-19, cela est déterminé par le test sérologique, antigénique et RT-PCR depuis Mars 2020 à Mai 2021

2.2 Sources et type des informations :

La collecte des données de l'échantillon à étudier est effectuée au niveau de deux laboratoires privés et le service covid-19 du centre hospitalier universitaire Tlemcen (CHU) dans le but de cerner les paramètres de la population (sexe, saison et tranche d'âge) qui sont les principaux critères de cette étude.

2.3 Méthodologie :

2.3.1 Principe du test sérologique :

Le principe est basé sur la cassette Vital Test –Pro COVID -19 IgG/IgM, cette dernière est une test immunochromatographique in vitro rapide ; qualitatif et pratique pour la détection différentielle des anticorps IgG et IgM dirigés contre le Sars-Cov 2 dans le sérum , le plasma ou le sang total humain .Ce dispositif médical est conçu pour faciliter la détermination de l'exposition récente ou antérieure au virus du SRAS-COV-2 en suivant l'état de la maladie après une infection par le Sarss-Cov 2 .

2.3.2 Pincipe de test antigénique :

Le test Humasis COVID-19 Ag est un test de diagnostic in vitro en une étape basée sur un test immunochromatographique. Ce test est conçu pour la détection qualitative des antigènes du SRAS-COV-2 dans des échantillons sur écouvillon nasopharyngés de patients suspects. Le kit nécessaire pour le test antigénique est le Sars-Cov -2 Rapid Antigen Test Roche.

2.3.3 Principe du test RT-PCR :

Le kit Bio-Rad Reliance SARS-CoV-2 RT-PCR est destiné à la détection qualitative de l'ARN du SARS-CoV-2 dans les échantillons sur écouvillons nasopharyngés. Le test détecte deux régions du gène de la nucléocapside du Sars-Cov 2 (appelées N1 et N2) et un gène RP humain exprimé de manière constitutive, le tout en une seule réaction. La détection de l'ARN

viral aide non seulement au diagnostic de la maladie, mais fournit également des informations épidémiologiques et de surveillance. Le test se compose de deux étapes principales : (1) extraction d'ARN à partir d'échantillon du patient et (2) transcription inverse en une étape et amplification par réaction de polymérisation en chaîne et détection des cibles N1 et N2 spécifiques du SARS-CoV-2, qui détectent l'infection virale, le test RP détecte le bruit de fond de l'acide nucléique humain dans l'échantillon du patient.

2.4 Critères de sélection des sujets atteints :

Les critères suivants ont été appliqués pour la sélection des patients atteints :

- Atteints de la covid-19.
- Diagnostiquer soit par test sérologique ou antigénique ou RT-PCR
- Comprend les deux sexes,
- Les sujets de différents âges

2.5 Critères de sélection des sujets non atteints :

Les critères suivants ont été appliqués pour la sélection des patients non atteints :

- Non Atteints de la covid 19.
- Diagnostiquer soit par test sérologique ou antigénique ou Rt-PCR
- Comprend les deux sexes,
- Les sujets de tous âges étaient inclus

2.6 Analyse statistique :

Pour le traitement statistique des données nous avons utilisé le logiciel Minitab 16 et Microsoft Excel 2010.

Les variables qualitatives sont décrites en pourcentage (%) et pour les variables quantitatives sont décrites par leurs moyennes et écart types. Nous avons utilisé le test de Khi deux pour la comparaison entre les variables qualitatives et test T de Student pour la comparaison entre les variables quantitatives.

Nous avons effectué des régressions binaires pour déterminer l'impact des variables étudiées sur la positivité du test de diagnostic de la Covid19 (la variable de réponse est ici notée Y, qui dénombre les sujets atteints de la covid-19 (P) et les non atteints (N), (P) étant la valeur de référence).La significativité des différences est déterminé selon la P value :

- ✓ Significative si P value < 0.05
- ✓ Très significative si P value < 0.01
- ✓ Hautement significative si P value < 0.0010

Résultats et interprétations

3 Résultats et interprétations :

3.1 Description de la population :

3.1.1 Données du test sérologique :

Les données de test sérologique des patients sont consignées dans le tableau suivant :

Tableau I: les données descriptives de la population testées par le test sérologique

Paramètres	Positifs (N=406)	Négatifs (N=310)	p-value
Age	44,5±16,9	41,3±16,6	0,011
Sexe			
Homme	(190) 46,80%	(185) 59,68%	0,001
Femme	(216) 53,20%	(125) 40,32%	
Tranches d'âges			
<40 ans	(187) 46%	(170) 55%	0,067
40-60 ans	(138) 34%	(88) 28%	
>60 ans	(81) 20%	(52) 17%	
Saisons			
Hiver	(211) 52%	(82) 26%	0,0001
Printemps	(27) 7%	(23) 7%	
Eté	(41) 10%	(44) 14%	
Automne	(127) 31%	(161) 52%	

La moyenne d'âge des patients testés positivement (44,5 ±16,9) est significativement plus élevée que la moyenne d'âge des sujets testés négativement pour la covid 19 (41,3 ± 16,6) avec un P value = 0,011.

Le pourcentage des femmes de la population du covid 19 (53,20%) est plus élevé que celui des hommes (46,80%). Alors que les hommes sont plus majoritaires (59,68%) par rapport aux femmes (40,32%) dans de la population témoin. On note une différence significative avec une p-value égale à 0,001 dans la distribution de notre population d'études selon le sexe.

Les patients diagnostiqués positivement dans la tranche <40 ans (46%) sont moins nombreux que les témoins (55%). Par contre, les pourcentages des sujets testés positivement

pour la Covid 19 dans les deux tranches 40-60 ans (34%) et >60 ans (20%) est plus élevés que celui des sujets testés négativement avec 28% et 17% respectivement. La valeur de la p-value est en faveur de significativité ($p=0,067$).

D'après le tableau, on observe que les sujets diagnostiqués positivement pendant l'hiver (52%) sont plus nombreux par rapport à ceux diagnostiqués dans autres saisons: 7% dans le printemps, 10% pour l'été et 31% durant l'automne.

Pendant l'hiver il y a plus de patients positifs (52%) que des sujets négatifs (26%) pour la covid 19. Alors que, les pourcentages des patients atteints dans d'automne (31%) et d'été (10%) sont faibles par rapport aux sujets témoins: 52% et 14% respectivement. Cependant durant la saison du printemps on remarque un équilibre entre la fréquence des patients atteints (7%) et celui des sujets sains (7%). la différence est hautement significative avec p-value égale à 0,0001.

3.1.2 Données du test antigénique :

Les données du test antigénique des patients sont consignées dans le tableau suivant :

Tableau II: les données descriptives de la population testées par le test antigénique.

Paramètres	Positifs (N=81)	Négatifs (N=78)	p-value
Age	44,6 ±17,4	44,8 ±19,1	0,954
sexe			
Hommes	(30) 37%	(38) 48,72%	0,137
Femmes	(51) 63%	(40) 51,28%	
Tranches d'âge			
<40 ans	(37) 46%	(36) 46%	0,440
40-60 ans	(27) 33%	(20) 26%	
> 60 ans	(17) 1%	(22) 28%	
Saisons			
Hiver	(58) 72%	(60) 77%	0,0001
Printemps	(6) 7%	(17) 22%	
Eté	(0) 0%	(0) 0%	
Automne	(17) 21%	(1) 1%	

Les moyennes d'âge des patients atteints du covid 19 ($44,6 \pm 17,4$ ans) et des sujets non atteints ($44,8 \pm 19,1$ ans) sont pratiquement égales avec $p=0,954$.

Les femmes de la population atteintes du covid 19 (63%) sont plus nombreuses par rapport aux hommes (37%). de même dans la population non atteintes du covid 19, le pourcentage des femmes (51,28%) est légèrement élevé que celui des hommes (48,72%) sans que cette différence soit significative ($p=0,137$).

Dans la première tranche d'âge (<40 ans) à un équilibre bien remarquable entre les patients positifs et les sujets négatifs pour le covid 19 avec un pourcentage de 40%.

Par contre, dans la deuxième tranche d'âge (40-60 ans) le pourcentage des sujets diagnostiqués positivement (33%) est plus élevé que celui des sujets diagnostiqués négativement (26%). Cependant, dans la dernière tranche d'âge (tranche > 60 ans), les patients atteints du covid 19 sont plus faible que les sujets négatifs (28%). Mais cette différence est non significative avec une p value est égale à 0,440.

On note une différence hautement significative ($p=0,0001$) concernant la répartition de la population selon la saison de diagnostic.

Le pourcentage des patients positifs pour la covid 19 dans la saison d'automne de la population (21%) est plus élevé par rapport à celui des sujets négatifs (1%) qui est presque nulle. Cependant les sujets testés négativement dans la saison d'hiver (77%) et dans la saison de printemps (22%) sont plus majoritaire que les sujets testés positivement dans ces deux saisons avec 72% et 7% respectivement.

3.1.3 Données du test RT-PCR :

Les données du test antigénique des patients sont consignées dans le tableau suivant :

Tableau III: les données descriptives de la population testées par le test RT-PCR.

Paramètres	Positifs (N=4718)	Négatifs (N=9765)	p-value
Sexe			
Hommes	(1070) 22,68%	(2331) 23,87%	0,113
Femmes	(3648) 77,32%	(7434) 76,13%	
Saisons			
Hiver	(980) 20,77%	(3042) 31,15%	0,0001
Printemps	(543) 11,51%	(1491) 15,27%	
Eté	(2415) 51,19%	(3380) 34,61%	
Automne	(780) 16,53%	(1852) 18,96%	

On remarque une dominance féminine dans la population testée par la RT-PCR, avec un équilibre entre le pourcentage des femmes testées positivement (77,32%) pour la covid 19 et celui des femmes testés négativement pour le virus (76,13%), cependant les hommes représentent une minorité avec 22,68% des cas positifs et 23,87% des cas négatifs. Aucune différence significative n'est observée entre les pourcentages ($p=0,113$).

Environ la moitié des patients atteints de la covid 19 ont été testé pendant la saison de l'été (51,19%) contre 34,61% des sujets testé négativement pendant la même saison, cela traduit un pic de propagation de virus durant les trois mois de l'été au niveau de la région de Tlemcen. Alors que les pourcentages des patients négatifs pour la covid 19 pendant l'hiver (31,15%), le printemps (15,27%) et l'automne (18,96%) sont plus élevés que les pourcentages des patients positifs pendant ces saisons (20,77%, 11,51% et 16,53% respectivement), avec une p-value égale à 0,0001.

3.2 Régression logistique :

3.2.1 Régression logistique du test sérologique :

Tableau IV:Modèle logistique pour les tests sérologiques.

Prédicteur	Coefficients	Z (wald)	p-value	OR	IC à 95 % inférieur	IC à 95 % Supérieur
Constante	0,121077	-2,98	0,003			
Sexe	0,157651	2,91	0,004	1,58	1,16	2,16
Saison d'hiver	0,163601	6,59	0,0001	2,94	2,13	4,05

OR : Odd Ratio, IC : Intervalle de confiance.

Le tableau montre une association statistiquement significative ($p < 0,05$) entre le sexe féminin et l'hiver d'une part et le diagnostic l'aide des tests sérologiques d'autre part.

Les femmes sont une fois et demi plus sensibles aux tests sérologiques (OR=1,58 ; 95% IC=1,16-2,16 ; $p=0,004$) par rapport aux hommes.

Les sujets testés pendant l'hiver sont pratiquement trois fois plus susceptibles au covid 19 (OR=2,94 ; 95% IC=2,13-4,05 ; $p=0,0001$) que les sujets testés pendant les autres saisons de l'année.

Les tests d'adéquation de l'ajustement par la méthode de Pearson, somme des carrés d'écart, Hosmer-Lemeshow et par les deux méthodes de Brown (alternative générale et alternative symétrique) acceptent le modèle logistique avec une p-value supérieure à 0,05.

Tableau V:Mesure d'association:(entre la variable de réponse et les prévisions de probabilité).

Paires	Nombre	Pourcentage	Mesures récapitulatives	
Concordant	67112	53,3	D de Somers	0,31
Discordant	28007	22,3	Gamma de Goodman-Kruskal	0,41
Ex aequo	30741	24,4	Tau a de Kendall	0,15
Total	125860	100,0		

On constate un pourcentage de paires concordantes (53,3%). Le D de Somers, le Gamma de Goodman-Kruskal et Tau-a de Kendall sont des résumés du tableau des paires concordantes et discordantes. Dans ce cas, les deux premières mesures valant 0,31 et 0,41 impliquent une capacité de prévision relativement bonne. Le Tau-a de Kendall donne une capacité de prévision faible.

3.2.2 Régression logistique des tests antigéniques :

Tableau VI: Modèle logistique pour les tests antigéniques.

Prédicteur	Coefficients	Z (Wald)	p-value	OR	IC à 95 % Inférieur	IC à 95 % Supérieur
Constante	-0,588609	-2,16	0,031			
Sexe	0,675249	1,95	0,052	1,96	1,00	3,88
Saison d'automne	3,17018	3,02	0,003	23,81	3,03	186,87

OR : Odd Ratio, IC : Intervalle de confiance.

Le tableau de la régression logistique indique une association statistiquement significative ($p < 0,05$) entre la saison de l'automne et le diagnostic du covid19 par des tests antigéniques.

Le risque pour que le test antigénique soit positif pendant l'automne est multiplié par 23,81 par rapport aux tests antigéniques effectués pendant les autres saisons de l'année (OR=23,81 ; 95% IC=3,03-168,87 ; $p=0,003$).

Le facteur sexe est en faveur de significativité, Les femmes sont pratiquement deux fois plus sensibles aux tests antigéniques (OR=1,96 ; 95% IC=1,00-3,88 ; $p=0,052$) comparativement aux hommes.

Le modèle logistique est accepté par les différents tests d'adéquation de l'ajustement: la méthode de Pearson, somme des carrés d'écart, Hosmer-Lemeshow et par les deux méthodes de Brown (alternative générale et alternative symétrique) avec une p-value supérieure à 0,05.

Tableau VII: Mesure d'association:(entre la variable de réponse et la prévisions de probabilité).

Paires	Nombre	Pourcentage	Mesures récapitulatives	
Concordant	2981	47,2	D de Somers	0,34
Discordant	854	13,5	Gamma de Goodman-Kruskal	0,55
Ex aequo	2483	39,3	Tau a de Kendall	0,17
Total	6318	100		

Pour les capacités prévisionnelles de ce modèle. On constate un pourcentage de paires concordantes de 47,2%. Le D de Somers, le Gamma de Goodman-Kruskal et Tau-a de Kendall sont des résumés du tableau des paires concordantes et discordantes. Les deux premières mesures valant 0,34 et 0,55 impliquent une capacité de prévision relativement faible. Le Tau-a de Kendall donne une capacité de prévision relativement basse.

3.2.3 Régression logistique des tests de RT-PCR :

Tableau VIII:Modèle logistique pour les tests de RT-PCR.

Prédicteur	Coefficients	Z (Wald)	p-value	OR	IC à 95% Inférieur	IC à 95% Supérieur
Constante	-2,26211	-57,57	0,0001			
Sexe	2,40371	56,14	0,0001	11,06	10,17	12,03
Saison d'Eté	0,736123	17,41	0,0001	2,09	1,92	2,27

OR : Odd Ratio, IC : Intervalle de confiance.

Le modèle logistique a montré que le test RT-PCR est significativement associé au sexe féminin et à la saison d'été ($p < 0,05$).

Les sujets de sexe féminin répondent environ onze fois plus au test RT-PCR que les sujets de sexe masculin (OR=11,06 ; 95% IC=10,17-12,03 ; $p=0,0001$).

Le test RT-PCR effectué durant la saison de l'été est pratiquement deux fois plus positif (OR=2,09 ; 95% IC=1,92-2,27 ; $p=0,0001$) que celui réalisé pendant les autres saisons de l'année.

Les tests d'adéquation de l'ajustement par la méthode de la somme des carrés d'écart, Hosmer-Lemeshow acceptent le modèle ($p\text{-value} > 0,05$). Alors que les autres tests d'adéquation de l'ajustement (Pearson et les deux méthodes de Brown (alternative générale et alternative symétrique)) rejettent le modèle logistique avec une $p\text{-value}$ inférieure à 0,05.

Tableau IX: Mesure d'association:(entre la variable de réponse et les prévisions de probabilité).

Paires	Nombre	Pourcentage	Mesures récapitulatives	
Concordant	32265597	70,0	D de Somers	0,57
Discordant	6143370	13,3	Gamma de Goodman-Kruskal	0,68
Ex aequo	7662303	16,6	Tau a de Kendall	0,25
Total	46071270	100,0		

Le pourcentage de paires concordantes est de 70,0%. Le D de Somers, le Gamma de Goodman-Kruskal et Tau-a de Kendall sont des résumés du tableau des paires concordantes et discordantes. Les deux premières mesures valant 0,57 et 0,68 impliquent une bonne capacité de prévision. Le Tau-a de Kendall donne une faible capacité de prévision.

Discussion

4 Discussion :

Poser un diagnostic de covid-19 avec le plus d'exactitude possible est la pierre angulaire du contrôle de la pandémie. Dans cette étude, nous nous proposons, de comparer les tests diagnostiques qui nous permettent de confirmer le covid-19, la réaction de transcription inverse suivie d'une réaction de polymérisation en chaîne quantitative en temps réel (RT-qPCR), et le test de diagnostic rapide basé sur la détection de l'antigène spécifique du SARS-CoV-2 sont deux méthodes utilisées dans la phase précoce des manifestations infectieuses. Les tests de détection des anticorps sériques (ELISA et test de flux latéral).

Nous avons évalué l'efficacité des deux tests de diagnostic rapide pour le SRAS-CoV-2, y compris un test de diagnostic rapide basé sur l'antigène (Sars-Cov -2 Rapid Antigen Test) et un test de diagnostic rapide basé sur la sérologie (Vital Test –Pro covid -19) ainsi que le test de diagnostic moléculaire de référence la RT-PCR chez les personnes de notre population testés pour la covid-19.

Selon notre étude, les tests sérologiques, antigéniques et la RT-PCR présentent une dominance de sexe féminin, qui est un facteur important de risque de la covid-19 avec (OR=1,58 ; 95% IC=1,16-2,16 ; p=0,004), (OR=23,81 ; 95% IC=3,03-168,87 ; p=0,003) et (OR=11,06 ; 95% IC=10,17-12,03 ; p=0,0001).

En effet, plusieurs études ont trouvé que la covid-19 infecte plus d'hommes que des femmes avec $p = 0,016$ (**G. Sharma et al.,2020**). L'incidence de la maladie est plus élevée chez les hommes que les femmes, ce résultat été rapporté dans un ensemble de séries publiées, exemple de celle de Chen N. et al

Pour notre étude, des manifestations de la Covid 19 chez les patients des deux tranches d'âge inférieure à 40 ans et celle entre 40-60 ans ont été retrouvé associées au test sérologique et au test antigénique.

Par ailleurs, Chen et al, ont indiqué que la plupart des participants étaient âgés de plus que 55 ans. Les patients décédés avaient un âge médian de 62 ans et étaient significativement plus âgés que les patients guéris (**T. Chen et al.**). Les patients avec un âge avancé ont une réponse

immunitaire probablement plus faible ; par conséquent, ils sont plus susceptibles de développer un syndrome de détresse respiratoire aiguë et donc la mortalité (**O. Albitar, R. et al**).

Selon les échantillons recueillis des deux laboratoires privés et du centre hospitalier universitaire de Tlemcen (CHU), nous avons pu démontrer que la détection du virus est variable, pendant, les différentes saisons de l'année par rapport au type du test choisi.

Nous avons confirmé que pendant les deux saisons successives automne -hiver, détection du virus par le test sérologique et antigénique offre une fiabilité importante en cette période. Quant au test RT-PCR, sa fiabilité est remarquable pendant la saison estivale.

Pour le test sérologique, le risque de la Covid 19 été trois plus élevé dans la saison d'hiver (OR=2,94 ; 95% IC=2,13-4,05 ; p=0,0001), le diagnostic par le test antigénique et par RT-PCR indique une exposition à la Covid 19 multipliée par deux environ dans la saison d'automne (OR=1,96 ; 95% IC=1,00-3,88 ; p=0,052) et dans l'été (OR=2,09 ; 95% IC=1,92-2,27 ; p=0,0001) respectivement.

En effet, La pandémie a débuté en Chine au cours du mois de décembre 2019, cette période correspondant à un climat froid et sec à Wuhan et dans le Hubei (Sun Z et al). Elle a ensuite progressé dans les pays de l'hémisphère nord pendant l'hiver avant de diffuser progressivement dans l'hémisphère sud. La transmission du SARS-CoV-2 est actuellement active dans 188 pays/régions2 correspondant à des zones climatiques variées.(**Neher RA et al,2020 ;Berumen J et al ,2020 ;Fineberg HV,2020 ;Bukhari Q, Jameel Y,2020 ;Ficetola GF, Rubolini D,2020**).

les tests de diagnostic (sérologiques, antigéniques, RT-PCR) détectent la protéine Spike qui permet au SARS-CoV-2 de pénétrer dans nos cellules, Elle est en outre l'une des cibles de notre système immunitaire face à l'infection, et celle de vaccins actuellement en développement.

D'après l'étude de Arons al et celle de Wölfel et ces collaborateurs, les tests de diagnostic rapide ont une bonne sensibilité et spécificité, au début de l'évolution des symptômes (0 à 7 jours), le test de l'antigène SARS-CoV-2 s'est bien comporté, avec une sensibilité similaire au test RT-PCR. De plus les études précédentes sur le SARS-CoV-2 montrent une persistance virale avec des quantités élevées d'excrétion virale au cours de la phase précoce de la maladie, diminuant 8 à 9 jours après l'apparition des symptômes. (**Arons al ; Wölfel et al.**).

Étant donné que les tests de diagnostic rapide d'antigène n'amplifient pas le virus présent dans les échantillons cliniques, la positivité du test de diagnostic rapide d'antigène reflète étroitement la phase d'excrétion virale élevée et la positivité du test d'antigène diminue à mesure que l'excrétion virale diminue.

Les tests sérologiques et antigéniques peuvent devenir utiles à la fois pour compléter le lien épidémiologique lorsque les résultats du diagnostic moléculaire sont négatifs, et pour alléger la charge des laboratoires impliqués dans le diagnostic moléculaire. **(OMS, 2020).**

Suivre la quantification de la charge virale au fil du temps du test RT-PCR et l'intégrer à des informations sur la technique et le calendrier de prélèvement des échantillons pourraient être utile pour différencier les différents stades de la maladie. La quantification virale fournira également des informations sur l'intérêt de tester différents échantillons provenant de différentes parties du corps. En raison du tropisme respiratoire principal du SARS-CoV-2, les meilleurs échantillons (pour la sensibilité) proviennent des voies respiratoires :en particulier, les écouvillons NP ont montré des charges virales persistantes plus élevées et plus longues que les écouvillons OP. **(Zou L. et al.)**

Conclusion

5 Conclusion :

En dépit de la masse considérable d'informations médicales et scientifiques recueillies en quelques mois, la Covid-19 reste une maladie émergente qui continue à défier nos connaissances moléculaires.

La synthèse sur les tests de diagnostic permet un positionnement et une évolution dans la réduction de l'infection virologique de la Covid-19, elle repose principalement sur la détection du génome, des anticorps et des protéines virales dans les sécrétions naso- ou oro-pharyngées et dans le sang, au stade précoce de l'infection, et pulmonaires profondes dans les formes graves

Dans cette optique, il est possible de dire que les tests deviennent fondamentaux et même une stratégie pour sauvegarder des sujets atteints et non atteints. Relativement à ce contexte, les tests indiquent une détection de virus dans tous ses états.

A cet égard la modeste étude précise les tranches d'âges respectives inférieure à 40ans, entre 40ans - 60ans et supérieure à 60ans, touchées par le virus. Le sexe féminin est plus susceptible à la covid-19 ainsi que les périodes de haute exposition au virus à savoir la saison d'hiver, d'été, automne.

Les tests rapides moléculaires, sérologique et antigéniques trouvent surtout leur place dans les situations d'urgence et dans le cadre des dépistages de sujets peu ou asymptomatiques. Le sérodiagnostic conventionnel est indicateur d'un contact d'un sujet avec le virus, sans qu'il soit possible d'affirmer le caractère protecteur de l'immunité humorale induite ni sa durée.

Il est urgent de proposer des tests de diagnostic direct moins invasifs et dont les résultats puissent être obtenus plus rapidement. Par ailleurs, une simplification des outils moléculaires s'avère nécessaire afin d'identifier promptement les souches mutantes dites d'intérêt, susceptibles d'émerger en tout lieu tant qu'une couverture vaccinale étendue de la population ne limitera pas la propagation du virus. Les études doivent aussi se poursuivre, notamment la surveillance des sujets infectés ou vaccinés, afin de mieux définir la place du profil moléculaire, sérologique et antigénique.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

- 1) Amir, I. J., & Lebar, Z. (2020). Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio*, 31(619), 15.
- 2) Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC et al. Infections et transmission présymptomatiques du SRAS-CoV-2 dans un établissement de soins infirmiers qualifié. *N Engl J Med*. 2020 ; 382 : 2081-2090 .

-B-

- 3) Bicheng Zhang, Xiaoyang Zhou, Chengliang Zhu, Fan Feng, Yanru Qiu, Jia Feng, Qingzhu Jia, Qibin Song, Bo Zhu, View ORCID Profile Jun Wang « Immune phenotyping based on neutrophil-to-lymphocyte ratio and IgG predicts disease severity and outcome for patients with COVID-19 », *medRxiv*, p. 2020.03.12.20035048, janv. 2020, doi : 10.1101/2020.03.12.20035048.
- 4) Backer J.A., Klinkenberg D., Wallinga J. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20-28 January 2020. *Euro Surveill*. 2020 ;25(5) ;
- 5) BERKANI, L. M., BELAID, B., & DJIDJIK, R. (2020). COVID-19 : Outils diagnostiques au laboratoire. *Revue Algérienne d'allergologie*. Vol, 5(01), 2543-3555.
- 6) Berumen J, Schmulson M, Guerrero G, Barrera E, Larriva-Sahd J, Olaiz G, et al. Trends of SARS-Cov-2 infection in 67 countries : Role of climate zone, temperature, humidity and curve behavior of cumulative frequency on duplication time. *medRxiv*. 2020. P. 2020.04.18.20070920.
- 7) Boehm, E., Kronig, I., Neher, R. A., Eckerle, I., Vetter, P., & Kaiser, L. (2021). Novel SARS-CoV-2 variants : the pandemics within the pandemic. *Clinical Microbiology and Infection*.
- 8) Bukhari Q, Jameel Y. Will Coronavirus Pandemic Diminish by Summer ? [Internet]. *SSRN Electronic Journal*. 2020. Disponible sur : <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3556998>

-C-

- 9) Candel FJ, Barreiro P, San Román J, et al. Recommendations for use of antigenic tests in the diagnosis of acute SARS-CoV-2 infection in the second pandemic wave : attitude in different clinical settings. *Rev Esp Quimioter*. 2020 Dec ;33(6) :466-484.

- 10) Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, Kanjilal S, Quach C, Libman M, et al. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome–Related Coronavirus-2 : A Narrative Review. *Ann Intern Med* [Internet]. 13 avr 2020 [cité 10 mai 2020] ; Disponible sur : <https://annals.org/aim/fullarticle/2764737/diagnostic-testing-severe-acute-respiratory->
- 11) Cheng MP, Papenburg J, Desjardins M, Kanjilal S, Quach C, Libman M, et al. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome–Related Coronavirus-2 : A Narrative Review. *Ann Intern Med* [Internet]. 13 avr 2020 [cité 10 mai 2020] ; Disponible sur : <https://annals.org/aim/fullarticle/2764737/diagnostic-testing-severe-acute-respiratory-syndrome-related-coronavirus-2-narrative>
- 12) Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*. 23 janv 2020 ;25(3) :2000045.
- 13) Crotty S. Une brève histoire de l'aide des cellules T aux cellules B. *Nat. Rév. Immunol*. 2015 ; 15 :185-189. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar] [Liste des références]
- 14) Cui J, Li F, Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019 ;17(3) :181-92. (24–26) 26. Chan JF-W, Yip CC-Y, To KK-W, Tang TH-C, Wong SC-Y, Leung K-H, et al. Improved Molecular Diagnosis of COVID-19 by the Novel, Highly Sensitive and Specific COVID-19-RdRp/HeI Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay Validated In Vitro and with Clinical Specimens. *J Clin Microbiol*. 23 2020 ;58.
- E-
- 15) Elsayed H., Nabi G., McKinstry WJ, Khoo KK, Mak J., Salazar AM, Tenbusch M., Temchura V., Überla K. Aide intrastucturale : exploiter les cellules T auxiliaires induites par des vaccins sous licence pour l'amélioration des réponses des anticorps anti-VIH aux vaccins à particules pseudo-virales. *J. Virol*. 2018 ; 92 :e00141-18. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar] [Liste des références] .
- 16) Emerging SARS-CoV-2 Variants. Centers for Diseases Control and Prevention. 28 janvier 2021 .

-F-

- 17) Ficetola GF, Rubolini D. Climate affects global patterns of COVID-19 early outbreak dynamics. medRxiv. 2020. P. 2020.03.23.20040501.
- 18) Fineberg HV. Rapid Expert Consultation on SARS-CoV-2 Survival in Relation to Temperature and Humidity and Potential for Seasonality for the COVID-19 Pandemic (April 7, 2020) [Internet]. The National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine ; 2020 [cité 4 juin 2020]. Disponible sur : <https://www.nap.edu/read/25771/chapter/1>

-G-

- 19) G. Sharma, A. S. Volgman, et E. D. Michos, « Sex differences in mortality from COVID-19 pandemic : are men vulnerable and women protected ? », Case Rep., vol. 2, no 9, p. 1407-1410, 2020.
- 20) Greaney AJ, Loes AN, Crawford KHD, Starr TN, et al. Comprehensive mapping of mutations to the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human serum antibodies. Preprint at bioRxiv <https://doi.org/10.1101/2020.12.31.425021>, 2021
- 21) Greaney AJ, Starr TN, Gilchuk P, Zost SJ, Binshtein E, Loes AN, et al. Complete mapping of mutations to the SARS-CoV-2 spike receptor-binding.
- 22) Grifoni A., Weiskopf D., Ramirez SI, Mateus J., Dan JM, Moderbacher CR, Rawlings SA, Sutherland A., Premkumar L., Jadi RS Cibles des réponses des cellules T au coronavirus SARS-CoV-2 chez les humains atteints de COVID -19 Maladies et personnes non exposées. Cellule. 2020 ; 181 :1489–1501.e15. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar] [Liste des références].
- 23) Guruprasad L. Reconnaissance du récepteur de la protéine hôte du pic du coronavirus humain . Prog Biophys Mol Biol . 2020. 10.1016/j.pbiomolbio.2020.10.006. [Article PMC gratuit] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].

-H-

- 24) Hamming, W. Timens, M. L. C. Bulthuis, A. T. Lely, G. J. Navis et H. van Goor, « Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in

understanding SARS pathogenesis », *The Journal of Pathology*, vol. 203, no 2, juin 2004, p. 631-637 (PMID 15141377, DOI 10.1002/path.1570).

25) Han GZ. Les pangolins hébergent des coronavirus liés au SRAS-CoV-2 . *Tendances Microbiol .* 2020 ; 28 (7) : 515-517. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar].

26) Holshue ML, DeBolt C, Lindquist S, Lofy KH, Wiesman J, Bruce H, et al. First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *N Engl J Med.* 5 mars 2020 ;382(10) :929-36.

27) Hui DS, Zumla A. Syndrome respiratoire aigu sévère : caractéristiques historiques, épidémiologiques et cliniques. *Infecter Dis Clin.* 2019 ;33(4) :869–89.

-I-

28) Investigation of novel SARS-CoV-2 variant – Variant of Concern 202012/01 – Technical briefing 6, Public Health England, 13 février 2021.

-J-

29) Juanjuan Zhao, Quan Yuan, Haiyan Wang, Wei Liu, Xuejiao Liao¹, Yingying Su, Xin Wang,¹ Jing Yuan,³ Tingdong Li, Jinxiu Li, Shen Qian¹, Congming Hong, Fuxiang Wang, Yingxia Liu, Zhaoqin Wang, Qing He, Zhiyong Li, Bin He, Tianying Zhang, Yang Fu, Shengxiang Ge, Lei Liu, Jun Zhang, Ningshao Xia, ZhengZhang¹, « Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients With Novel Coronavirus Disease 2019 », *Clin. Infect. Dis.*, no ciaa344, mai 2020, doi :10.1093/cid/ciaa344.

-K-

30) Kelvin Kai-Wang To, Owen Tak-Yin Tsang, Wai-Shing Leung, Anthony Raymond Tam, Tak-Chiu Wu, David Christopher Lung, Cyril Chik-Yan Yip, Jian-Piao Cai, Jacky Man-Chun Chan, Thomas Shiu-Hong Chik, Daphne Pui-Ling Lau, Chris Yau-Chung Choi, Lin-Lei Chen, Wan-Mui Chan, Kwok-Hung Chan, Jonathan Daniel Ip, Anthony Chin-Ki Ng, Rosana Wing-Shan Poon, Cui-Ting Luo, Vincent Chi-Chung Cheng, Jasper Fuk-Woo Chan, Ivan Fan-Ngai Hung, Zhiwei Chen, Honglin Chen, Kwok-Yung Yuen « Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2 :

anobservational cohort study », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 20, no 5, p. 565-574, mai 2020, doi : 10.1016/S1473-3099(20)30196-1.

31) Khavari P, Ramanathan M, Ferguson ID, Miao W. SARS-CoV-2 B.1.1.7 and B.1.351 Spike variants bind human ACE2 with increased affinity. *bioRxiv* 2021.2021.2022.vol. 22.432359.

32) Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, et al ; Sheffield COVID-19 Genomics Group. Tracking changes in SARS-CoV-2 spike : evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell*. 182(4) :812-827, 2020

-L-

33) La Scola B, Le Bideau M, Andreani J, et al. Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards. *Eur J Clin Microb Infect Dis* 2020 ;39 :1059-61.

34) Lam TT, Jia N, Zhang YW et al. Identification des coronavirus liés au SRAS-CoV-2 chez les pangolins malais . *Nature* . 2020 ; 583 :286-289. [PubMed] [Google Scholar].

35) Lau SK, Woo PC, Li KS, Huang Y, Tsoi HW, Wong BH, et al. Virus de type coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère chez les chauves-souris chinoises en fer à cheval. *Proc Natl Acad Sci*. 2005 ;102(39) :14040-5. et le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS)-CoV en 2012.

36) Luring AS, Hodcroft EB. Genetic Variants of SARS-CoV-2-What Do They Mean ? *JAMA*. Feb 9 ;325(6) :529-531, 2021.

37) Liu Y., Gayle A.A., Wilder-Smith A., Rocklöv J. The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *J Travel Med*. 2020 ;27(2) :taaa02.

38) Luan B, Wang H, Huynh T. Enhanced binding of the N501Y-mutated SARSCoV-2 spike protein to the human ACE2 receptor : insights from molecular dynamics simulations. *FEBS Lett* [Internet].

-N-

39) National health commission of the People's Republic of China (2020) The latest situation of new coronavirus pneumonia.

40) Neher RA, Dyrdak R, Druelle V, Hodcroft EB, Albert J. Impact of seasonal forcing on a potential SARS-CoV-2 pandemic. medRxiv. 2020;2020.02.13.20022806.

41) Nelson G, Buzko O, Spilman PR, Niazi K, Rabizadeh S, Soon-Shiong PR. Molecular dynamic simulation reveals E484K mutation enhances spike RBDACE2 affinity and the combination of E484K, K417N and N501Y mutations.

42) Novel Coronavirus (2019-nCoV) situation reports.

-O-

43) O. Albitar, R. Ballouze, J. P. Ooi, et S. M. S. Ghadzi, « Risk factors for mortality among COVID-19 patients », *Diabetes Res. Clin. Pract.*, vol. 166, p. 108293, 2020.

44) Organisation WH. Allocution d'ouverture du directeur général de l'OMS lors de la conférence de presse sur le covid-19-11 mars 2020. 2020 ; 2020.

-P-

45) Peng Y., Mentzer AJ, Liu G., Yao X., Yin Z., Dong D., Dejnirattisai W., Rostron T., Supasa P., Liu C., Oxford Immunology Network Covid-19 Response T cell Consortium. Chercheurs de l'ISARIC4C Cellules CD4 + et CD8 + à mémoire large et forte induites par le SRAS-CoV-2 chez des personnes convalescentes au Royaume-Uni après COVID-19. *Nat. Immunol.* 2020 ; 21 :1336-1345. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar] [Liste des références].

46) Perlman S. Une autre décennie, un autre coronavirus. *Société médicale de masse* ; 2020.

-R-

47) R. W. Peeling et al., « Serology testing in the COVID-19 pandemic response », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 20, no 9, p. e245-e249, sept. 2020, doi : 10.1016/S1473-3099(20)30517-X.

48) R. W. Peeling et al., « Serology testing in the COVID-19 pandemic response », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 20, no 9, p. e245-e249, sept. 2020, doi : 10.1016/S1473-3099(20)30517-X.

- 49) Rydyznski Moderbacher C., Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A., Hastie KM, Weiskopf D., Belanger S., Abbott RK, Kim C., Choi J. Immunité adaptative spécifique de l'antigène au SRAS-CoV-2 dans le COVID aigu -19 et les associations avec l'âge et la gravité de la maladie. *Cellule*. 2020 ; 183 :996–1012.e19. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar] [Liste des références].
- S-
- 50) Sekine T., Perez-Potti A., Rivera-Ballesteros O., Strålin K., Gorin J.-B., Olsson A., Llewellyn-Lacey S., Kamal H., Bogdanovic G., Muschiol S., Karolinska Groupe d'étude COVID-19. Immunité robuste des cellules T chez les personnes convalescentes atteintes de COVID-19 asymptomatique ou léger. *Cellule*. 2020 ; 183 :158-168.e14. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar] [Liste des références].
- 51) Serology testing of COVID19 John Hopkins center for health security.pdf [Internet]. [cité 13 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.centerforhealthsecurity.org/resources/COVID-19/COVID-19-fact-sheets/200228-Serology-testing-COVID.pdf>
- 52) Starr TN, Greaney AJ, Dingens AS, Bloom JD. Complete map of SARS-CoV-2RBD mutations that escape the monoclonal antibody LY-CoV555 and its cocktail with LY-CoV016. *Cell Rep Med* 2021. Apr 5;100255.
- 53) Stephen K, Fauver JF, Mack C et al. Densely sampled viral trajectories suggest longer duration of acute infection with B.1.1.7 variant relative to non-B.1.1.7 SARS-CoV-2. *Dash.Harvard.Edu*, 10 février 2021
- 54) Stephens DS, McElrath MJ. COVID-19 et le chemin vers l'immunité. *JAMA*. 2020 ; 324 :1279-1281. [PubMed] [Google Scholar] [Liste de références]
- 55) Sun Z, Thilakavathy K, Kumar SS, He G, Liu SV. Potential Factors Influencing Repeated SARS Outbreaks in China. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(5):E1633.
- 56) Sur B.1.1.7 et l'apparition de la mutation E484K dans cette lignée.
- 57) Sur B.1.351 et sa résistance à l'immunité .

-T-

- 58) T. Chen et al., « Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019 : retrospective study », *Bmj*, vol. 368, 2020.
- 59) Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M et al. Emergence and rapid spread of a new severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage with multiple spike mutations in South Africa. *medRxiv*, 21 décembre 2020.
- 60) The Laboratory Diagnosis of COVID-19 Infection : Current Issues and Challenges | *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. [cité 10 mai 2020]. Disponible sur : <https://jcm.asm.org/content/early/2020/04/03/JCM.00512-20>.
- 61) Toptan T, Eckermann L, Pfeiffer AE, Hoehl S, Ciesek S, Drosten C, Corman VM. Evaluation of a SARS-CoV-2 rapid antigen test : Potential to help reduce community spread ? *J Clin Virol*. 2021 Feb ;135 :104713

-U-

- 62) Udugama B, Kadhiresan P, Kozlowski HN, Malekjahani A, Osborne M, Li VYC, et al. Diagnosing COVID-19 : The Disease and Tools for Detection. *ACS Nano*. 28 avr 2020 ;14(4) :3822-35.

-V-

- 63) Vaccins Krammer F. SARS-CoV-2 en cours de développement. *Nature*. 2020 ; 586 :516-527. [PubMed] [Google Scholar] [Liste de référence].
- 64) Vogels C, Brito A, Wyllie A, et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-CoV-2 qRT-PCR assays. *Nat Microbiol* 2020 ; 5 :1299-1305.
- 65) Volz E, Mishra S, Chand M, Barrett JC, et al. Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 in England : Insights from linking epidemiological and genetic data. Preprint at medRxiv <https://doi.org/10.1101/2020.12.30.20249034>, 2021.

-W-

- 66) W. Liu et al., « Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detecting Antibodies against SARS-CoV-2 », *J.Clin. Microbiol.*, vol. 58, no 6, p. e00461-20, mai 2020, doi : 10.1128/JCM.00461-20.
- 67) Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*. 11 mars 2020 ;
- 68) Wise J. Covid-19 : The E484K mutation and the risks it poses. *BMJ*, 5 février 2021
- 69) Wölfel R VM de Corman Guggemos Fet al. Bilan virologique des patients hospitalisés atteints de COVID-2019. *Nature*. 2020 ; 581 : 465-469.
- 70) Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China : Summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020 ;323(13) :1239-42. Epub 2020/02/25. Doi : 10.1001/jama.2020.2648. PubMed PMID : 32091533.

-Z-

- 71) Zaki AM, Van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus AD, Fouchier RA. Isolement d'un nouveau coronavirus d'un homme atteint de pneumonie en Arabie saoudite. *N Engl J Med*. 2012;367(19):1814-20.
- 72) Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) en tant que récepteur du SRAS-CoV-2 : mécanismes moléculaires et cible thérapeutique potentielle . *Soins Intensifs Méd* . 2020 ; 46 (4) : 586-590. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar.
- 73) Zhang W, Davis BD, Chen SS, Sincuir Martinez JM, Plummer JT, Vail E. Emergence of a novel SARS-CoV-2 variant in Southern California. Feb 11 [Internet] [cited 2021 Feb 18]. Available from: *JAMA* 2021. <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2776543>.
- 74) Zhou P, Yang XL, Wang XG et al. Une épidémie de pneumonie associée à un nouveau coronavirus d'origine probable de chauve-souris . *Nature* . 2020 ; 579 (7798) : 270-273. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar.

- 75) Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. N Engl J Med. 19 2020;382(12):1177-9.
- 76) Zou L.Ruan F.Huang M.Liang L.Huang H.Hong Z.et al.Charge virale SARS-CoV-2 dans les échantillons des voies respiratoires supérieures des patients infectés.N Engl J Med. 2020 ; 382 : 1177-1179 .

Annexe

Annexe 1 : Test sérologique :

Préparation des échantillons :

Des échantillons de sang total peuvent être prélevés par piqure au bout du doigt ou par prélèvement veineux, conformément aux procédures de routine de l'établissement.

Sang total avec prélèvement capillaire au bout du doigt :

- Lavez les mains du patient à l'eau chaude et au savon, ou nettoyez-la avec un tampon d'alcool. Laissez sécher.
- Massez la main sans toucher le site de ponction en flottant de la main vers le majeur ou l'annulaire.
- Piquez la peau avec une lancette stérile. Essuyez les premières signes de sang.
- Frottez doucement du poignet à la paume et au doigt pour créer une goutte de sang ronde au point de ponction.
- Recueillir la goutte de sang à l'aide de la pipette capillaire incluse jusqu'à la ligne blanche (20ul).
- Insérez l'échantillon de sang total dans le puits de la cassette de test immédiatement après le prélèvement.

Sang total veineux :

- Recueillir le sang total veineux dans un tube contenant un anticoagulant.
- Les échantillons de sang total doivent être testés immédiatement après le prélèvement des échantillons.

Pour les échantillons de sérum :

Prélevez le sang dans un tube anticoagulant et laissez-le coaguler.

Pour les échantillons de plasma :

- Prélevez de sang dans un tube contenant un anticoagulant.
- Séparez le sérum ou le plasma du sang dès que possible pour éviter l'hémolyse.
- Utilisez uniquement des échantillons clairs et non hémolysés.

- Le sang peut être conservé entre 2° C et 8° C pendant trois jours au maximum si les tests ne peuvent pas être effectués immédiatement. Laissez l'échantillon atteindre la température ambiante (sans chauffage) avant utilisation.

Annexe 2 : Test antigénique :

Procédure Du Test :

- Retirez le dispositif de test de la poche scellée en déchirant l'encoche et placez le dispositif de test sur une surface sèche et de niveau. La cassette extraite de sa pochette doit être utilisée au maximum dans les 4 heures qui suivent.
- Pour le sang total capillaire ou veineux : A l'aide d'un tube capillaire, prélever le sang total du doigt ou le sang total veineux jusqu'à la ligne blanche (20ul). Pour le sérum/plasma : A l'aide d'une pipette ,prélever le sérum/plasma(10ul).
- Ajouter le sérum /plasma/sang total recueilli dans la zone supérieure (près de la fenêtre test) du puits d'échantillon sur le dispositif de test sans bulles d'air (maintenir le tube capillaire/la pipette verticalement et toucher doucement l'extrémité contre le tampon dans le puits d'échantillon pour le transfert).
- Attendez 20-30 secondes ; ajouter 2 gouttes (environ 90ul) de la solution tampon au puits d'échantillon du dispositif de test.
- Lisez les résultats après 15-30 minutes .Des échantillons fortement positifs peuvent engendrer un résultat positif en moins d'une minute.
- interprétation des résultats après 3 à minutes.

Procédure de test : prélèvement d'échantillons

- Utiliser l'écouvillon inclus dans l'emballage pour prélever l'échantillon naso-pharyngé.
- L'échantillon collecté doit être tester immédiatement après la collecte pour obtenir le meilleur résultat.

Méthode d'essai :

- Préparer un sachet en aluminium contenant le dispositif de test et placez-le sur la surface de test avec le tube à essai et le capuchon de l'installateur.
- Sortez le dispositif de test de la pochette en aluminium et placez le sur une surface plane .

- Décollez le capuchon du tube à essai et insérez la pointe de l'écouvillon avec l'échantillon du patient et tournez la pointe plus de 10 fois pour extraction d'échantillons.
- Modifier le tourbillonnement, retirez l'écouvillon en appuyant la pointe contre la paroi du tube à essai pour faire sortir le liquide extrait.
- Equipez le capuchon du timon sur le tube à essai et versez 3 gouttes d'extraits d'échantillon (90-100ul) dans le puits d'échantillon de l'appareil.
- Lire les résultats à 15 minutes après l'application de l'échantillon pas lire le résultat après 15 minutes.

Annexe 3 : Test RT-PCR :

Extraction d'acide nucléique :

Les performances du kit de dosage Bio-Rad Reliance Sars-CoV-2 RT-PCR dépendent de la quantité et de la qualité de l'ARN matriciel purifié à partir d'échantillons humains. Les kits et procédures d'extraction commerciaux suivants ont été qualifiés et validés pour la récupération et la pureté de l'ARN à utiliser avec le test :

- Le kit d'isolement d'acide nucléique viral / pathogène MagMAX Thermo Fisher Scientific

(Référence N° A48310, N° A42352)

Mini kit d'ARN viral QIAGEN QIAamp (Référence N° 52906, N° 52904)

Suivez les procédures recommandées par le fabricant pour l'extraction des échantillons. Des contrôles positif et négatif doivent être inclus dans chaque lot d'extraction.

Remarque : L'extraction automatisée (sur QIAcube ou Kingfisher) à l'aide de ces kits est prise en charge par les fabricants et nécessite une validation.

Préparation des contrôles :

Contrôle positif :

- Introduire 5 µL du standard SARS-CoV-2 Exact Diagnostics dans un tube contenant 995 µL de solution saline tamponnée au phosphate (PBS). Traiter comme un échantillon de patient et procéder à l'extraction d'acide nucléique avec d'autres échantillons selon les instructions du fabricant.

Contrôle négatif :

- Introduire 5 µL de contrôle négatif SARS-CoV-2 Exact Diagnostics dans un tube contenant 995 µL de PBS. Traiter comme un échantillon de patient et procéder à l'extraction d'acide nucléique avec d'autres échantillons selon les instructions du fabricant.

Préparation de la réaction RT-PCR en une étape

- Assurez-vous que le ou les échantillons d'ARN extraits sont décongelés sur de la glace.

Remarque : Ne pas faire tourbillonner les échantillons d'ARN. Les échantillons d'ARN peuvent être mélangés en effleurant les tubes, suivis d'une brève centrifugation pour en recueillir le contenu au fond des tubes.

- Décongelez tous les composants du kit sur de la glace.
- Bien mélanger en faisant tourbillonner légèrement chaque tube pour obtenir l'homogénéité, puis centrifuger par impulsions pour en recueillir le contenu au fond de chaque tube

Remarque : Le Reliance One-Step Multiplex Supermix est visqueux. Il est essentiel de secouer avant de commencer la préparation du mélange d'essai.

- Préparation du mélange-maître de la RT-PCR :

a. Préparez un mélange-maître en fonction du nombre d'échantillons de patients et de contrôles à tester plus 10 % de volume supplémentaire (Tableau 7) lorsque plus d'un échantillon est testé.

b. Faites tourbillonner légèrement le mélange-maître, puis centrifugez par impulsions pour en recueillir le contenu au fond du tube.

- Distribuer 10 µL du mélange-maître dans les puits appropriés de la plaque RT-PCR.
- Ajouter 10 µL d'eau sans RNase / DNase dans un puits pour un NTC.
- Ajouter 10 µL de matériel de contrôle négatif dans un puits pour un contrôle négatif.

- Ajouter 10 μL de matériel de contrôle positif dans un puits pour un contrôle positif.
- Pour les puits restants, ajouter 10 μL d'échantillon d'ARN extrait par puits.
- Sceller la plaque avec un film d'étanchéité pour plaque PCR Microseal 'B' ou un film adhésif optique MicroAmp.
- Faites tourbillonner la plaque pendant 30 secondes à une vitesse élevée.
- Centrifuger la plaque de réaction RT-PCR pendant 30 secondes à 1000 RCF pour éliminer les bulles d'air et permettre à la réaction RT-PCR de se déposer au fond des puits. S'il reste des bulles, faites à nouveau tourner la plaque.
- Procédez au chargement de la plaque de réaction RT-PCR sur un instrument de PCR en te CFX96 Dx ou AB7500 Fast Dx.

Résumé :

De nombreux tests de diagnostic permettant le dépistage de la Covid-19. L'objectif de cette étude est de déterminer la pertinence des tests de diagnostic utilisés en fonction du sexe, âge et la saison. Notre étude a été effectuée au niveau de la Wilaya de Tlemcen (extrême ouest Algérien) sur une population composée de 5205 patients atteints de la covid-19 et 10153 non atteints, les données ont été recueillies auprès du service covid-19 de CHU de Tlemcen et deux laboratoires privés. Les femmes sont plus susceptibles à la covid-19, quant au test RT-PCR (OR=11,06 ; 95% IC=10,17-12,03 ; p=0,0001) et au test sérologique (OR=1,58 ; 95% IC=1,16-2,16 ; p=0,004), la sensibilité des tests RT-PCR, antigénique et sérologique varie selon succession saisonnières : été (OR=2,09 ; 95% IC=1,92-2,27 ; p=0,0001), automne (OR=2,09 ; 95% IC=1,92-2,27 ; p=0,0001), et hiver (OR=2,94 ; 95% IC=2,13-4,05 ; p=0,0001). Le sexe féminin et l'hiver, été et automne peuvent influencer l'efficacité des tests de diagnostic du SARS-CoV-2.

Abstract :

There are many diagnostic tests available for the detection of Covid-19. The aim of this study is to determine the relevance of the diagnostic tests used according to sex, age and season. Our study was carried out in the Wilaya of Tlemcen (extreme west of Algeria) on a population composed of 5205 patients with covid-19 and 10153 without, the data were collected from the covid-19 service of the CHU of Tlemcen and two private laboratories. Women are more susceptible to covid-19, as for the RT-PCR test (OR=11.06; 95% IC=10.17-12.03; p=0.0001) and the serological test (OR=1.58; 95% IC=1.16-2.16; p=0.004), the sensitivity of the RT-PCR, antigenic and serological tests varies according to seasonal succession: Summer (OR=2.09; 95% CI=1.92-2.27; p=0.0001), autumn (OR=2.09; 95% CI=1.92-2.27; p=0.0001), and winter (OR=2.94; 95% CI=2.13-4.05; p=0.0001). Female gender and winter, summer and autumn may influence the effectiveness of SARS-CoV-2 diagnostic tests.

ملخص

اختبارات تشخيصية عديدة تسمح بفحص Covid-19 الهدف من هذه الدراسة هو تحديد مدى ملائمة الاختبارات التشخيصية المستخدمة حسب الجنس والعمر والموسم. أجريت دراستنا في ولاية تلمسان (أقصى غرب الجزائر) على مجتمع مكون من 5205 مريضاً مصاباً بفيروس كوفيد-19 و 10153 غير مصابين بالمرض ، وتم جمع البيانات من خدمة كوفيد-19 من مستشفى جامعة تلمسان ومختبرين من القطاع الخاص.. النساء أكثر عرضة للإصابة من خلال اختبار RT-PCR (OR=11,06 ; 95% IC=10,17-12,03 ; p=0,0001) واختبار المصلي (OR=1,58 ; 95% IC=1,16-2,16 ; p=0,004)، تختلف حساسية اختبار RT-PCR واختبار المصلي وفقاً للتتابع الموسمي : الصيف (OR=2,09 ; 95% IC=1,925-2,27 ; p=0,0001)، الخريف (OR=2,09 ; 95% IC=1,92-2,27 ; p=0,0001)، والشتاء (OR=2,94 ; 95% IC=2,13-4,05 ; p=0,0001)، الجنس الأنثوي ، الصيف ، الخريف والشتاء قد يؤثران على تشخيص اختبارات Sars-Cov 2.