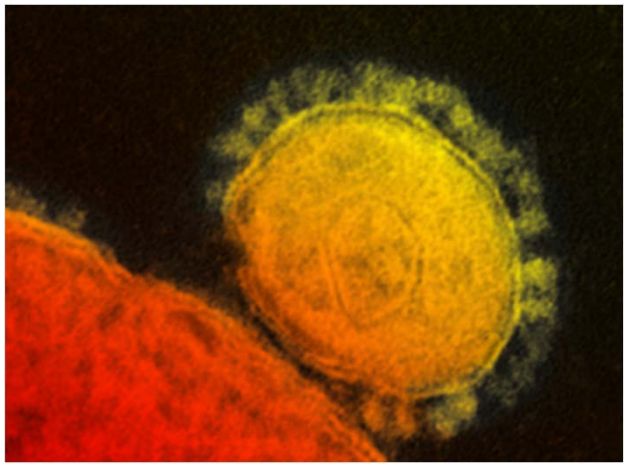
INFOVAC-FRANCE

LIGNE DIRECTE D'INFORMATION ET DE CONSULTATION SUR LES VACCINS



Pandémie COVID-19 (SARS-CoV-2)

I. Immunité - Méthodes diagnostiques

Robert COHEN

- InfoVac-France
- ACTIV
- GPIP
- CHI-Créteil
- UPEC

Màj 31 Août 2020

GPIP

Collège de Gynécologie CVL

INFOVAC-FRANCE

Ont contribué à la réalisation de ce diaporama

- **Yves Gillet**
- **Amine Si Ali**
- **Olivier Romain**
- **Emmanuel Grimprel**
- **Vincent Gajdos**
- **Marie-Aliette Dommergues**
- **François Vie Le Sage**
- **Geneviève Monguillot**

Avertissement : Il persiste encore de très nombreuses inconnues sur

ce virus

cette pandémie

les traitements

Collège de Gynécologie CVL

INFOVAC-FRANCE

7 erreurs à propos du SARS-CoV-2

- Il n'y a pas de transmission « air » du virus
- Le masque est inutile en population générale
- La PCR nasale n'est pas un examen sensible
- Les tests de diagnostic rapide n'auront pas d'utilité
- Une PCR + = risque élevé de contagion
- Sérologie négative à distance des symptômes = pas de maladie
- Un vaccin efficace, bien toléré et en quantité suffisante va être disponible avant la fin de l'année 2020

College de Gynecologie CVL

Immunité vis-à-vis des coronavirus

Certitudes & incertitudes

Collège de Gynécologie CVL

COVID-19 et Immunité : Certitudes

- Si les patients guérissent « naturellement » d'une maladie infectieuse, c'est que le système immunitaire a réussi à contrôler l'infection
  - Anticorps neutralisants
  - Immunité cellulaire
- La maladie est donc **immunisante** pour l'immense majorité des patients +++
- **Les anticorps détectés par des tests de diagnostic rapide ou dosés** par ELISA **après la maladie <u>témoignent</u> du contact avec le virus et de cette immunisation**
- Cela ne veut pas dire que ces anticorps dosés en routine soient eux même protecteurs. Ils peuvent témoigner
  - de la présence d'anticorps neutralisants
  - de la mise en place d'une l'immunité cellulaire

Collège de Gynécologie CVL

COVID-19 et Immunité : Incertitudes

- Un proportion non négligeable (10 à 20%) des patients ayant été infectés et guéris garde une **PCR + dans les semaines ou mois qui suivent l'infection**
  - La majorité d'entre eux sont asymptomatiques
  - Quelques uns se plaignent d'asthénie
  - D'autres ont des symptômes respiratoires ou digestifs sans que l'on puisse affirmer que le SARS-CoV-2 en soit responsable
  - **Mais**
    - **Pas de « deuxième » maladie sévère ou grave décrite**
    - Peu d'exemple de maladie infectieuse ou la 2ème maladie soit plus grave que la première en population générale
- Ces patients ne sont très probablement pas (peu ?) contagieux et ne témoignent pas d'une circulation virale
- Au décours du pic épidémique dans les régions fortement touchées, il est difficile d'interpréter une PCR positive sans sérologie concomitante

Collège de Gynécologie CVL

COVID-19 et Immunité : Incertitudes

Le fait qu'un test positif ne permette pas d'éliminer que le patient puisse avoir une PCR positive secondairement et les incertitudes sur la durée de protection expliquent que l'OMS se soit prononcée contre la délivrance de « passeport sérologique ».

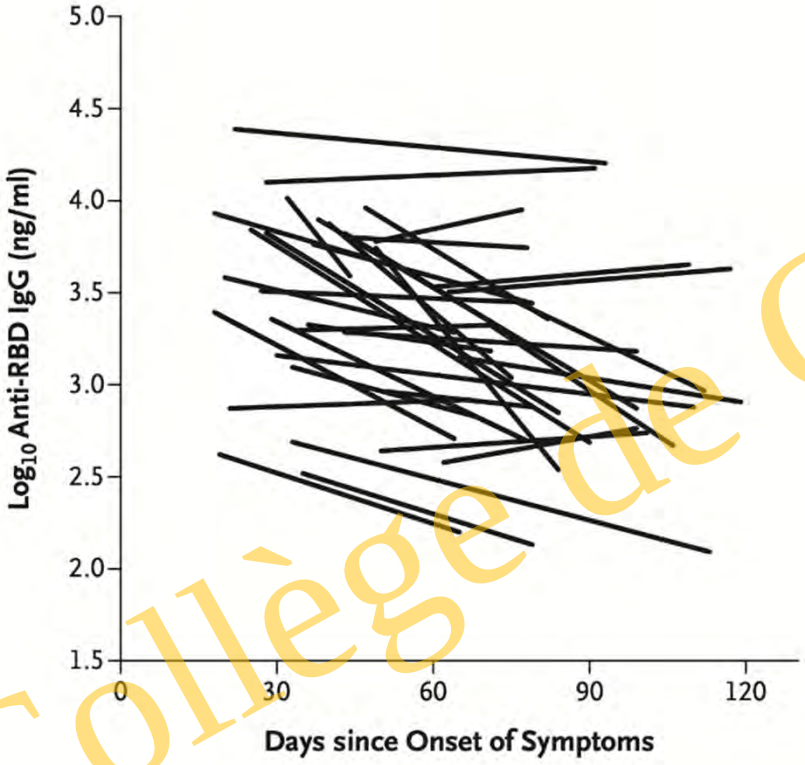
- **La durée de protection +++**
  - 1 à 3 ans pour les coronavirus « habituels »
  - 2 à 14 ans de persistance d'Ac neutralisants pour le Sars-CoV-1
  - Sars-CoV2 ???
- Des études suggèrent que les taux d'anticorps (1)
  - **Diminuent progressivement en fonction de l'antigène, de l'individu et de la gravité de la maladie**
  - Mais qu'environ **¼ des patients asymptomatiques ou pauci-symptômatique deviennent séronégatifs après la contamination**
  - Ce qui n'exclut pas la **persistance d'une immunité cellulaire (CD4, CD8)**
- En effet différentes études (2,3) retrouvent **une mémoire immunitaire forte des cellules T CD4 + et CD8 + induites par le SARS-CoV-2 chez des patients convalescents**

1) Long Qx Nature Med June 2020
2) Peng Y BioRxiv 2020 June https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32577665/
3) Le Bert N Nature June 2020 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32668444/

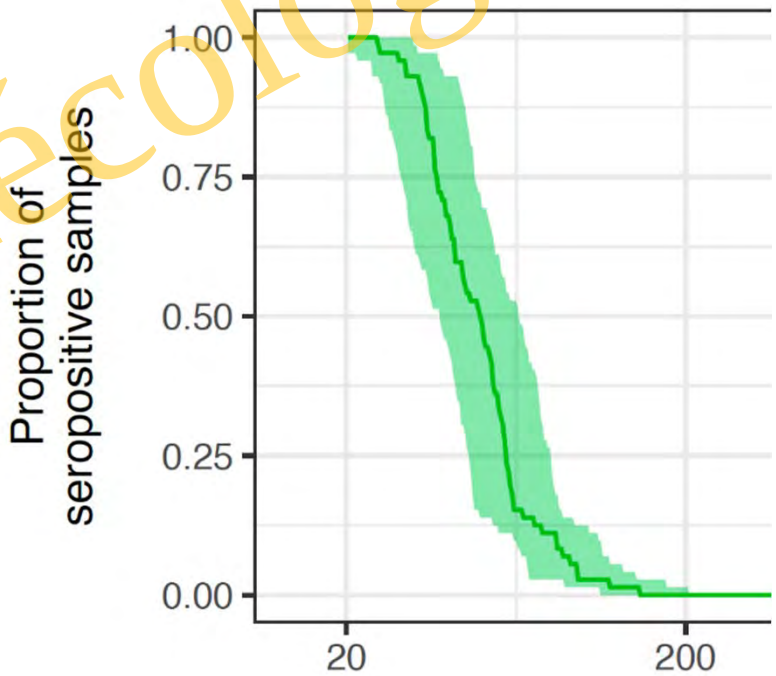
Collège de Gynécologie CVL

Les Ac. induits par l'infection déclinent mais de façon variable
- d'un individu à l'autre
- en fonction de l'antigène

Rapid Decay of Anti-SARS-CoV-2 antibodies in Persons with Mild Covid-19
Ibarrondo et al NEJM 2020, July 21



Humoral réponse dynamics following Infectionwith SARS-CoV-2
Granjean et al doi: https://doi.org/10.1101/2020.07.16.20155663.



Demi-vie pour
- Ac Anti nucléoprotéine : 52 j → 50 % négatif en 6 mois
- Ac anti spike : 85 J

Collège de Gynécologie CVL

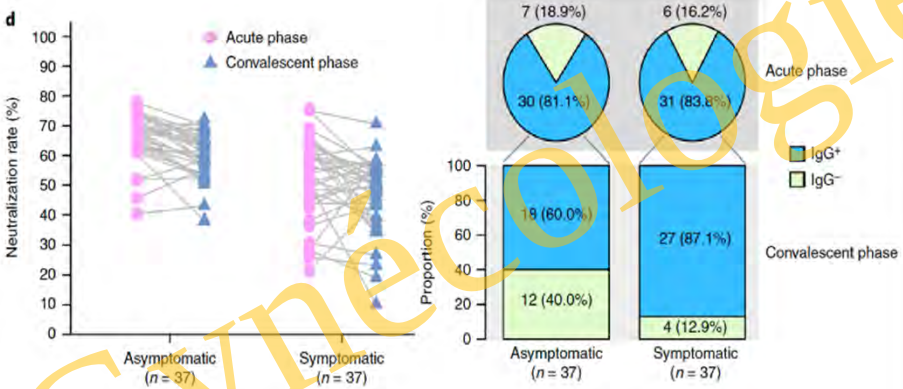
Immunological assessment

IgG and IgM, 8 weeks after exposure (convalescent phase)

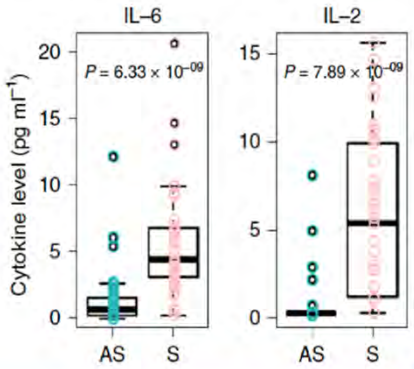
- A decline of IgG is observed among >90% of patients
- 40% and 13% of asymptomatic individuals IgG+ at the acute phase became seronegative

Similar observations were made for neutralizing antibodies

Asymptomatic patients had a reduced inflammatory response with lower concentration of circulating cytokines and chemokines



The relatively low seroprevalence and its decrease within 2-3 months after infection highlights the potential limits of serology for diagnostic and the need of timely serosurvey.



Limits

→Viral RNA shadding does not equate viral infectivity (not assessed in this study)

→Serological observations may depend in part of the commercial assay used

Long QX *et al Nat Med.* Jun 2020

Les Ac. dépistés par les sérologies ou neutralisants déclinent en quelques semaines et la sérologie peut redevenir négative.

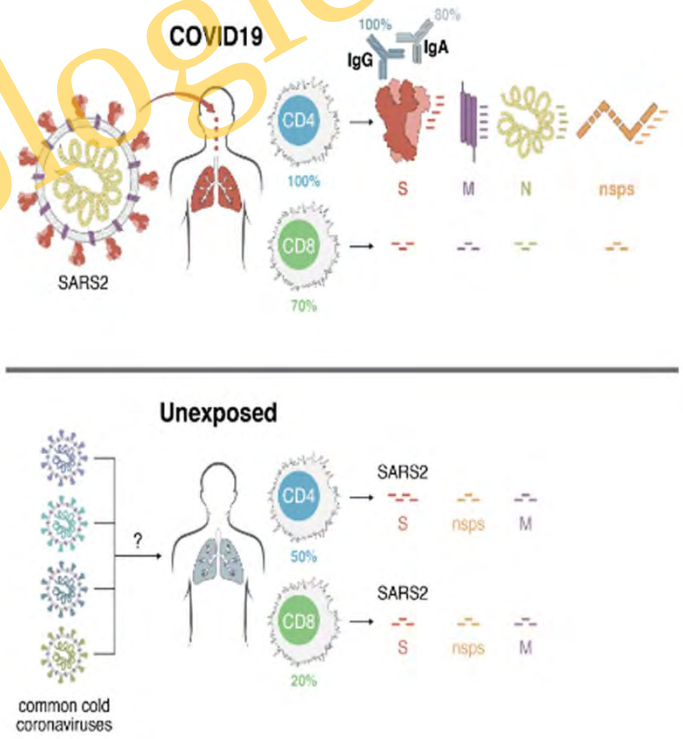
Les concentrations d'anticorps sont plus faibles pour les asymptomatiques et les pauci-symptomatiques

→ **Limites des études séro-épidémiologiques**

Collège de Gynécologie CVL

COVID-19 et Immunité : Incertitudes

- Différentes études (2,3) retrouvent **une mémoire immunitaire forte des cellules T CD4 + et CD8 + induites par le SARS-CoV-2 chez des patients convalescents**
- D'autres, suggèrent aussi un **certain degré de protection croisée entre les coronavirus « habituels » et le SARS-CoV-2**
- En effet, les auteurs ont détecté des cellules T CD4+ réagissant au SARS-CoV-2 chez environ 40 à 60 % des personnes non exposées, ce qui suggère une reconnaissance des cellules T chez les patients préalablement infectés par les coronavirus habituels



1) Long Qx Nature Med June 2020
2) Peng Y BioRxiv 2020 June https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32577665/
3) Le Bert N Nature June 2020 https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32668444/
4) Grifoni Cell June 2020

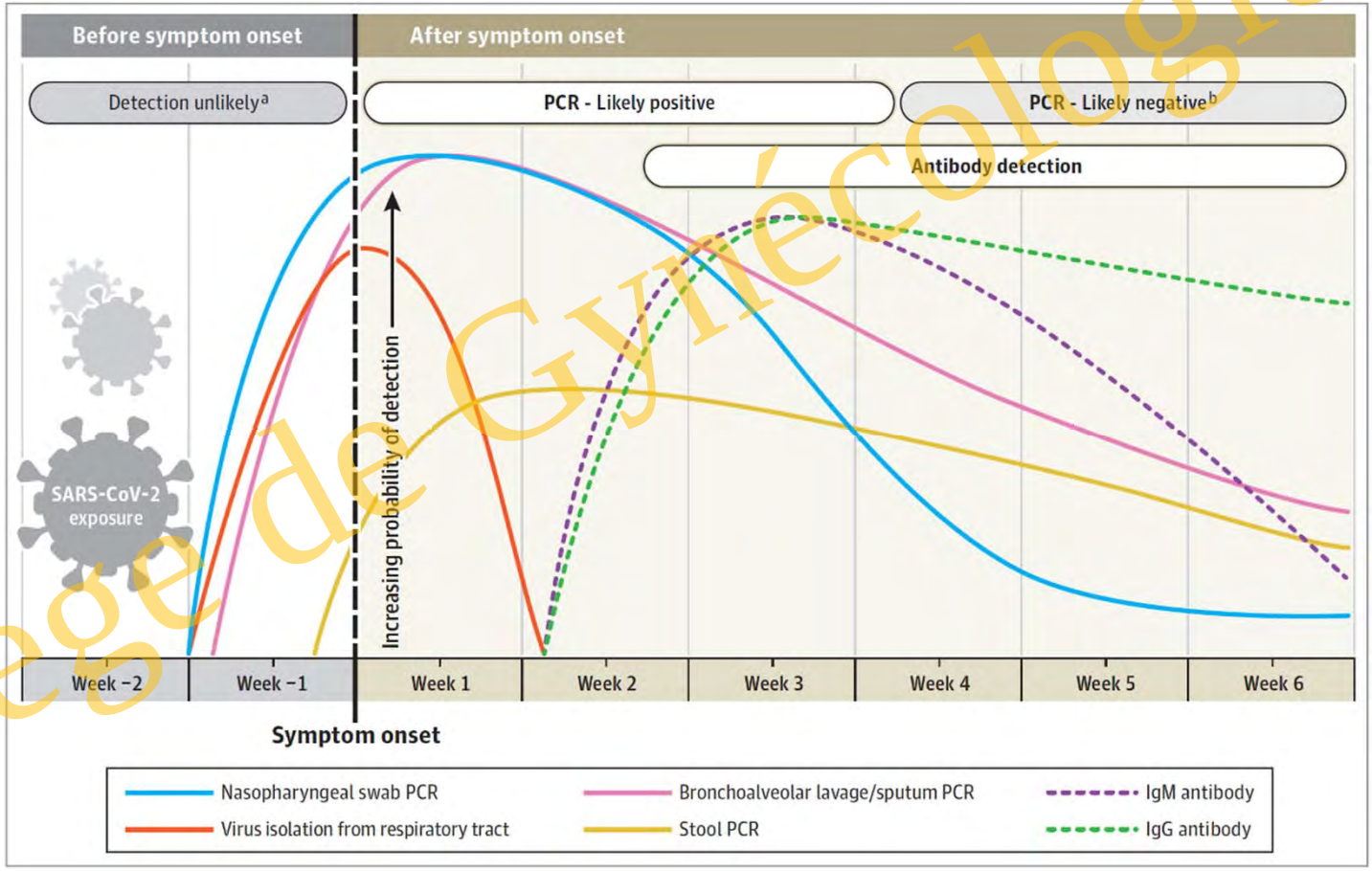
Collège de Gynécologie CVL

Les méthodes diagnostiques

INFOVAC-FRANCE

Collège de Gynécologie CVL

Interprétation des méthodes diagnostiques en fonction du stade de l'infection



Collège de Gynécologie CVL

INFOVAC-FRANCE

Détection du virus par PCR classique

- **Le test de référence** de diagnostic du SARS-CoV-2 : détection de l'ARN viral par **PCR**
  - Prélèvements rhino-pharyngés plus sensibles qu'oro-pharyngés
  - Prélèvements salivaires (moins désagréables): sensibilité discordante selon les études probablement moins sensibles que les prélèvements naso-pharyngés
  - Prélèvements plus profonds : expectorations, lavages broncho-alvéolaires (si hospitalisation)
  - A partir de selles : plus longtemps positifs mais sujets probablement non contaminants
- **Spécificité excellente**
- **Sensibilité dépend de plusieurs facteurs** :
  - Qualité prélèvement (profond)
  - Stade de la maladie : Dynamique de **l'excrétion respiratoire virale**
    - Atteint son maximum à la fin de la 1ère semaine après contamination, juste avant et pendant les 3 premiers jours qui suivent apparition des symptômes
    - Diminue lorsque la réponse immunitaire (IgM puis IgG) apparait
    - Durant 2ème semaine, meilleur rendement des prélèvements profonds et dans les selles

Collège de Gynécologie CVL

Détection du virus par PCR classique

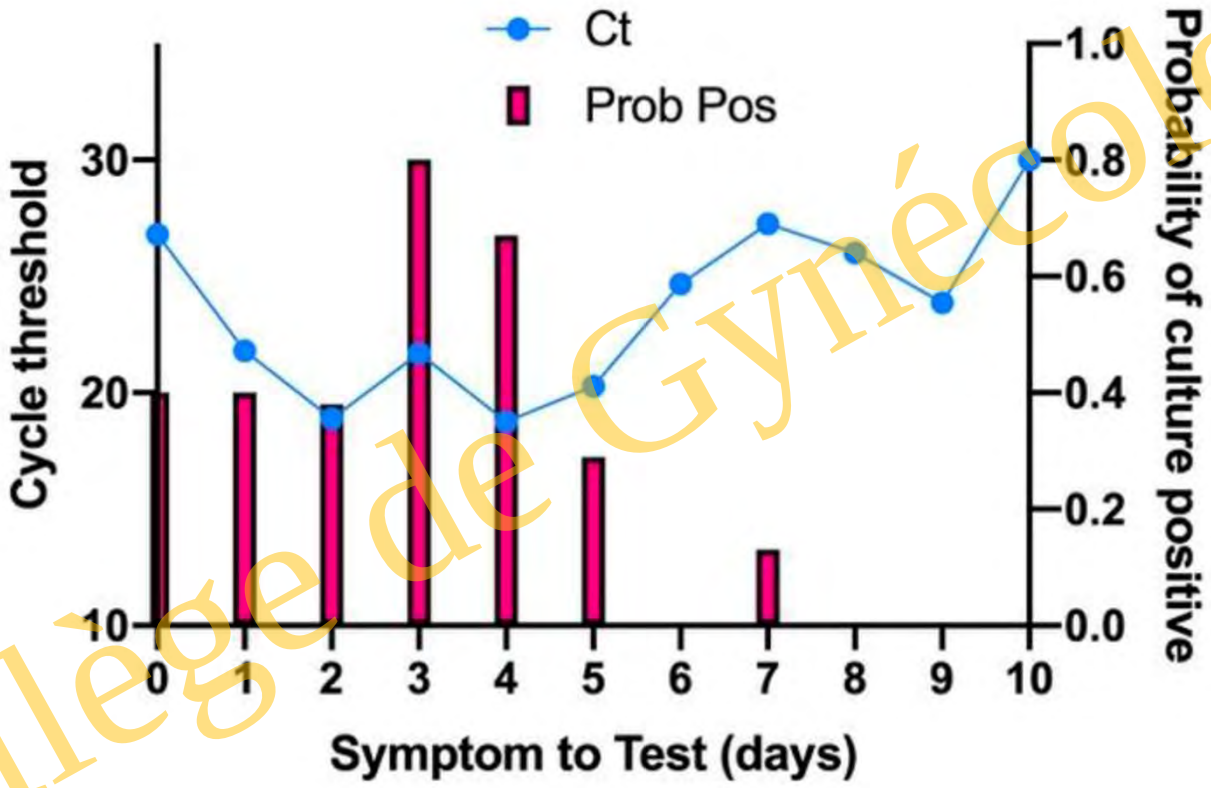
Ces tests PCR par prélèvements rhinopharyngés ont cependant plusieurs inconvénients

- Leur sensibilité est imparfaite en cas de prélèvement de mauvaise qualité ou à distance de l'infection
- Ils sont souvent ressentis comme désagréables par les patients rendant difficile leur répétition
- Ils sont coûteux (> 50€)
- L'obtention des résultats en pratique dépasse en moyenne un jour mais peut atteindre plusieurs jours quand les demandes sont nombreuses, empêchant de déclencher, dans des délais raisonnables, les enquêtes autour d'un cas
- La fenêtre de positivité, chez la majorité des patients, ne dépasse pas une dizaine de jours…Un patient négatif un jour donné a pu être contagieux avant ou après un test négatif
- **Une PCR positive n'implique pas la contagiosité**, en effet
  - Une semaine après le début des signes cliniques …et/ou
  - Lorsque la charge virale est faible (> 30 cycles en PCR) …et/ou
  - Lorsque la sérologie est positive

→ Les cultures virales sont négatives suggérant une infectivité faible ou absente

Collège de Gynécologie CVL

Détection du virus



Au delà de 25 cycles en RT-PCR et/ou au-delà de 8 jours après le début des symptômes, la culture virale est rarement positive, plaidant pour une faible contagiosité

Bullard CID June 2020

Collège de Gynécologie CVL

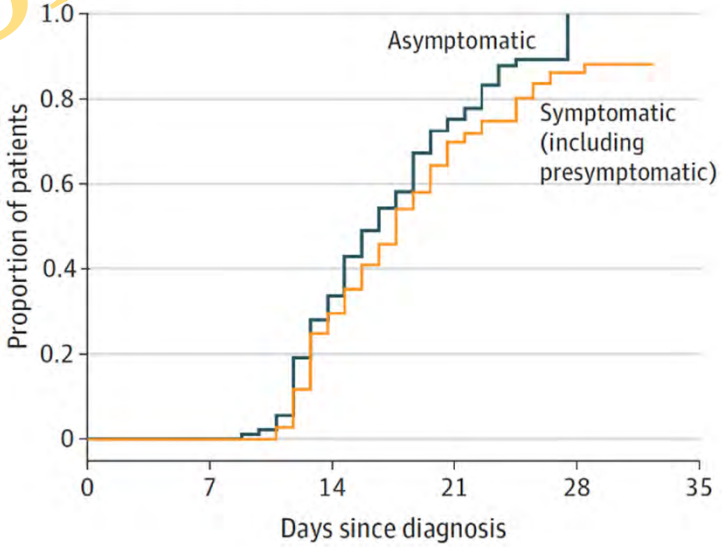
Détection du virus par PCR Patients vs asymptomatiques

Key Points

Question Are there viral load differences between asymptomatic and symptomatic patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection?

Findings In this cohort study that included 303 patients with SARS-CoV-2 infection isolated in a community treatment center in the Republic of Korea, 110 (36.3%) were asymptomatic at the time of isolation and 21 of these (19.1%) developed symptoms during isolation. The cycle threshold values of reverse transcription–polymerase chain reaction for SARS-CoV-2 in asymptomatic

Figure 1. Proportion of Negative Conversion in Asymptomatic and Symptomatic (Including Presymptomatic) Patients



Dans cette étude la charge virale et le temps de négativation de la PCR étaient comparables chez les patients vs asymptomatiques

JAMA Intern Med. Published online August 6, 2020. doi:10.1001/jamainternmed.2020.3862

Collège de Gynécologie CVL

Détection du virus en fonction du temps

Positivity of viral culture

Viral culture is only rarely positive for low viral load (Ct values above 25 to 30) and after 8 to 10 days after symptom onset

Viral culture is not positive for feces sample

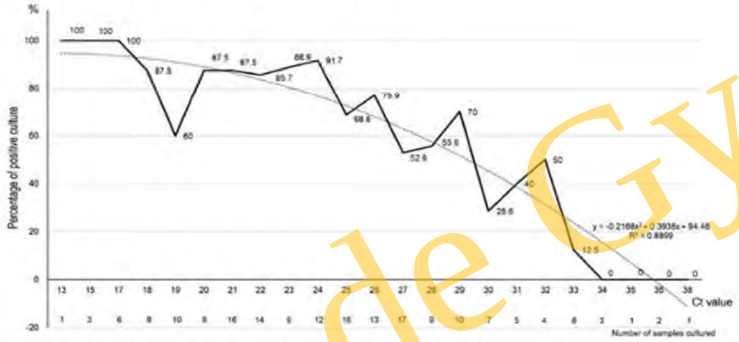
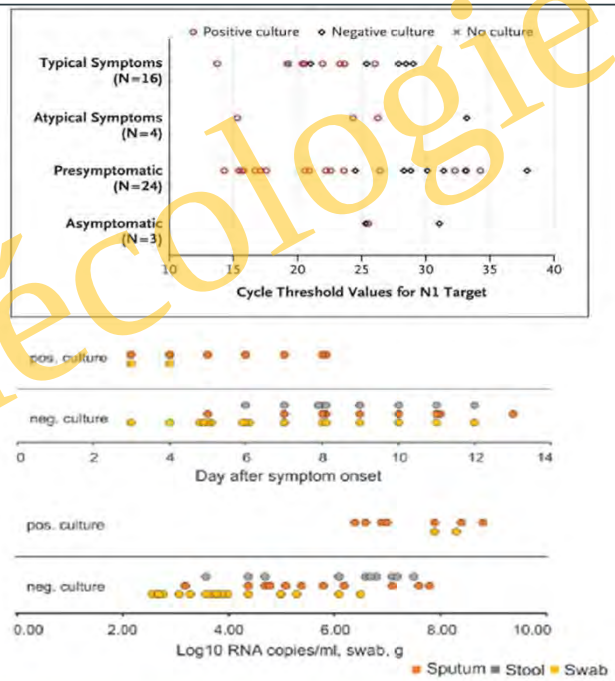


Fig. 1 Percentage of positive viral culture of SARS-CoV-2 PCR-positive nasopharyngeal samples from Covid-19 patients, according to Ct value (plain line). The dashed curve indicates the polynomial regression curve



Arons MM *et al NEJM* May 2020

La Scola B *et al Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* Jun 2020

La positivité de la culture virale diminue en fonction du délai après le début des symptômes et du nombre de cycles en RT-PCR

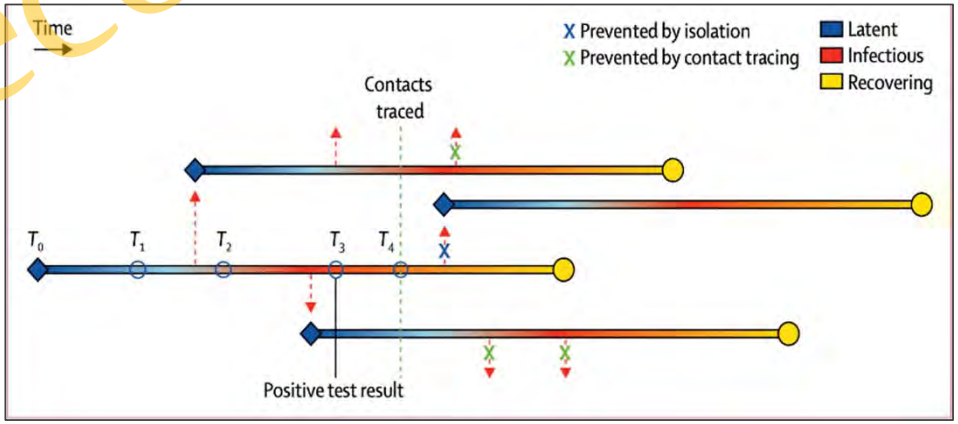
College de Gynécologie CVL

INFOVAC-FRANCE

Impact of delays on effectiveness of contact tracing strategies for COVID-19: a modelling study.

Kretzschmar Lancet Public Health 2020 July 16, 2020

- **La rapidité d'obtention des résultats des tests est cruciale pour l'efficacité du dépistage des sujets contacts contaminés et la diminution du R*0***
- Pour un R*0* à 1,2 (obtenu grâce aux mesures de distanciation et des gestes barrières)
  Un délai de 0 jours : R*0* = 0·8
  Un délai d'un jour : R*0* = 1
  Un délai de 3 j : R*0* = 1,2



En pratique le délai dépasse en règle générale 24 heures et souvent 3 jours…
Il faut se poser la question de l'intérêt des TDR

Collège de Gynécologie CVL

INFOVAC-FRANCE

Détection du virus par des tests rapides

- **Deux types de « test rapide »** ont été développés et sont en cours de développement et d'évaluation
- **Des PCR « rapides » réalisables dans les lieux de consultation**
  - Obtention du résultat en moins d'une heure
  - Spécificité excellente
  - Sensibilité à peine moins bonne que les PCR classiques
  - Coût identique (+ équipement de départ)
- **Des tests antigéniques**
  - Beaucoup moins coûteux (quelques €)
  - Très rapides (< 15')
  - Faciles à réaliser (certains pourraient être faits par les malades eux mêmes)
  - Très spécifiques mais moins sensibles
  - Peuvent être suffisants pour dépister les patients les + contagieux et pour diagnostiquer plus tôt les clusters
- **Ils pourraient avoir dans les prochains mois un rôle important dans le contrôle de l'épidémie**

Collège de Gynécologie CVL

INFOVAC-FRANCE

Détection du virus par des tests rapides

Rapid Scaling Up of Covid-19 Diagnostic Testing in the United States — The NIH RADx Initiative

Bruce J. Tromberg, Ph.D., Tara A. Schwetz, Ph.D., Eliseo J. Pérez-Stable, M.D.,

NEJM JULY 23, 2020

- Antigen tests work by detecting the presence of viral proteins and can provide rapid results, similar to the way pregnancy tests operate.
- Antigen tests can offer fast and scalable point-of-care performance, but they have lower sensitivity than most nucleic acid–based assays.
- This limitation can be a concern in high-risk settings such as nursing homes, where missing the detection of an infected person can lead to serious consequences
- Although a number of manufacturers are known to be developing antigen-based tests, to date only two have received an FDA EUA.

- Contrairement aux PCR détectant l'ARN viral, les tests antigéniques détectent des protéines virales (comme les tests de grossesse ou les tests des angines)
- Ce sont des tests qui sont toujours moins sensibles que la PCR mais qui permettent de prendre une décision en présence du malade
- Ils ne peuvent pas être utilisés pour des patients à haut risque ou lorsque la non détection du virus peut avoir des conséquences catastrophiques

Collège de Gynécologie CVL

Détection du virus par des tests rapides

Rapid Scaling Up of Covid-19 Diagnostic Testing in the United States — The NIH RADx Initiative

Bruce J. Tromberg, Ph.D., Tara A. Schwetz, Ph.D., Eliseo J. Pérez-Stable, M.D.,

NEJM JULY 23, 2020

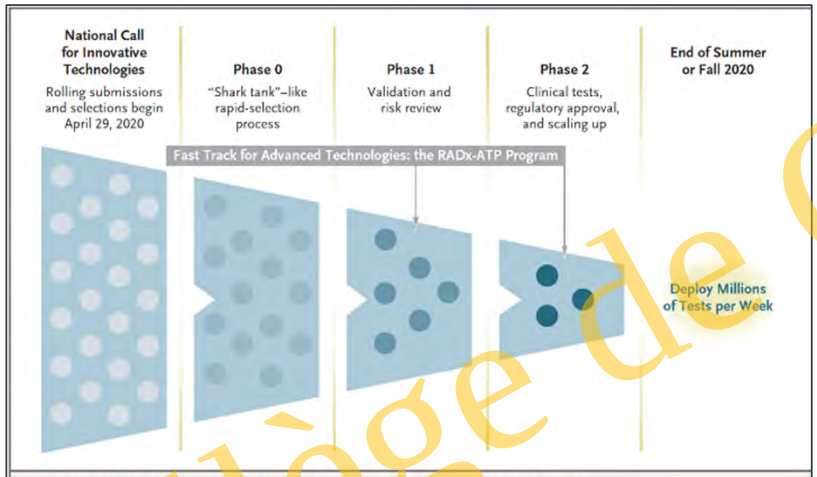


Figure 1. RADx-tech Innovation Funnel to Evaluate Testing Technologies for Covid-19.

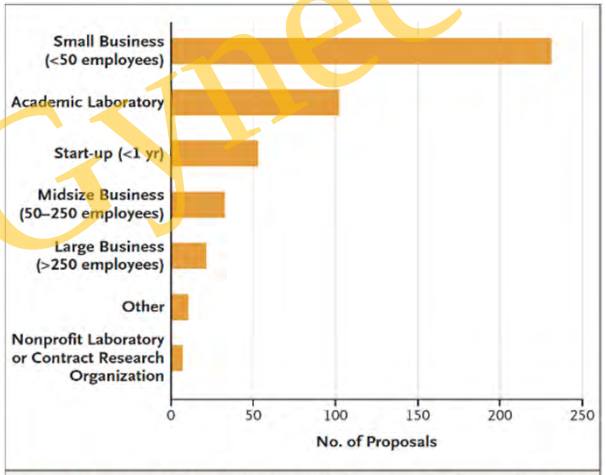


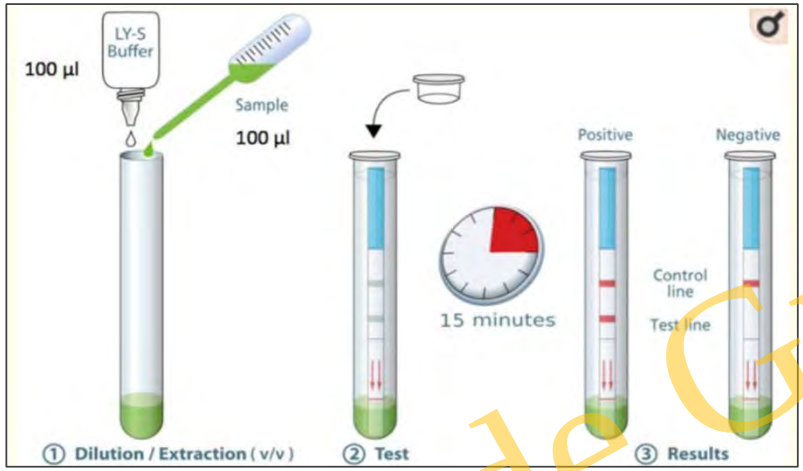
Figure 2. Number of RADx-tech Proposals, According to Organization Type.

Ces tests bénéficient maintenant aux USA, de procédures rapides pour leurs développements et leur approbation.
Ils font l'objet d'un financement important.
Leurs développements sont assurés essentiellement par des petites entreprises ou des structures académiques.

Collège de Gynécologie CVL

Development and Potential Usefulness of the COVID-19 Ag Respi-Strip Diagnostic Assay in a Pandemic Context

Mertens Frontiers in Medicine July 2020 doi: 10.3389/fmed.2020.00225



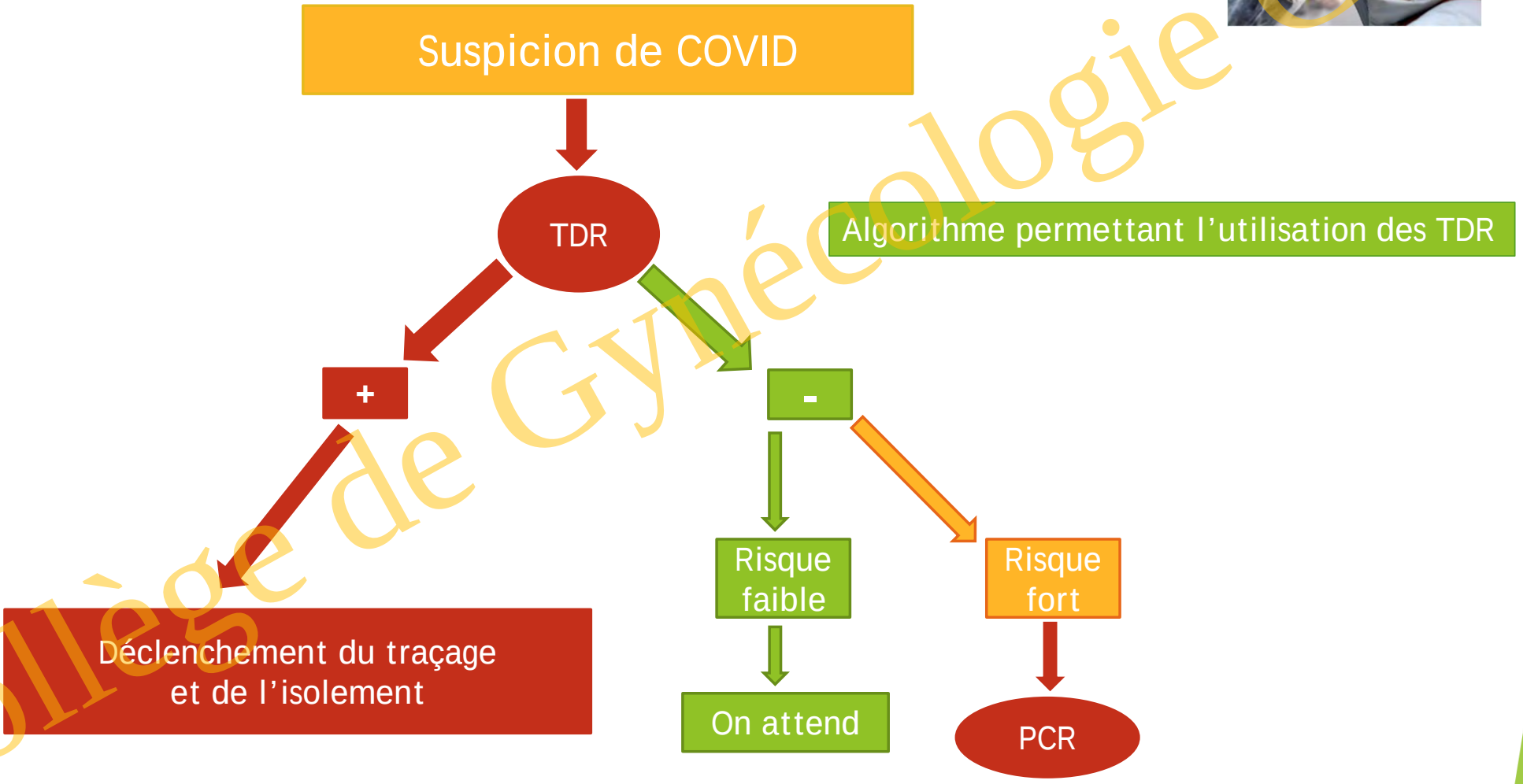
Clinical performance study.

	N = 99	*N* = 132	*N* = 97	*N* = 328
Prevalence	30.3%	55.3%	29.9%	40.2%
CT: Mean	20.5	23.3	20.9	22.2
CT: Median	19.5	23.6	22.5	22.4
Sensitivity				
Overall	60.0%	60.3%	48.3%	57.6%
For CT < 25	85.7% (on *N* = 21)	76.7% (on *N* = 43)	58.3% (on *N* = 24)	73.9% (on *N* = 88)
Specificity	100.0%	98.3	100.0%	99.5%

La spécificité de ces tests est excellente, avoisinant les 100% : un test positif signe le diagnostic.
La sensibilité est nettement moins bonne, entre 50 et 60 %, mais elle augmente lorsque la charge virale est élevée (entre 60 et 85 %), permettant de dépister la majorité des sujets contagieux.
Les tests antigéniques supposent une excellente qualité de prélèvement.
Les performances de ces tests sont comparables à ceux des TDR de la grippe.

Collège de Gynécologie CVL

Démarche de diagnostic



Collège de Gynécologie CVL

Deux types de tests sérologiques sont disponibles et validés par les autorités officielles

- **Tests sérologiques classiques (ELISA) réalisés en laboratoire à partir de sérum**
- **Tests de diagnostic rapide à partir de quelques gouttes de sang total : immunochromatographique sur bandelette de nitrocellulose (lateral flow assay ou LFA)**
  - Similaires à ceux de la grossesse ou autres TDR
  - Peuvent être réalisés directement par soignant voire patient
  - Résultat < 20 mn

Les tests validés par les autorités de santé sont aussi sensibles et spécifiques qu'il s'agisse d'ELISA ou LFA
Liste des tests de diagnostic validés en France
https://covid-19.sante.gouv.fr/tests

College de Gynécologie CVL

Détection des anticorps

INFOVAC-FRANCE

- Après contamination, SARS-COV-2 se multiplie dans rhinopharynx
- **Stade précoce**: ARN détectable → **PCR +**
- **Infection** →
  - Activation des lymphocytes T et B spécifiques du virus
  - Production d'**anticorps**
- **Réponse immunitaire :**
  - Montée des anticorps : IgM (J7→J14) puis IgG **(J10 →J21)** contre les antigènes spécifiques du Sars-CoV-2
  - Quantité de virus « contaminant » diminue dans rhinopharynx → **PCR - ou faiblement ou incomplètement +**
    → **Sérologie +**

Une sérologie positive témoigne de l'exposition au virus.
On ignore si les anticorps détectés (ELISA) sont protecteurs, mais la majorité des patients guérissant, on peut envisager **une présomption de protection**.
Question : quelle est la durée de cette protection ?

Collège de Gynécologie CVL

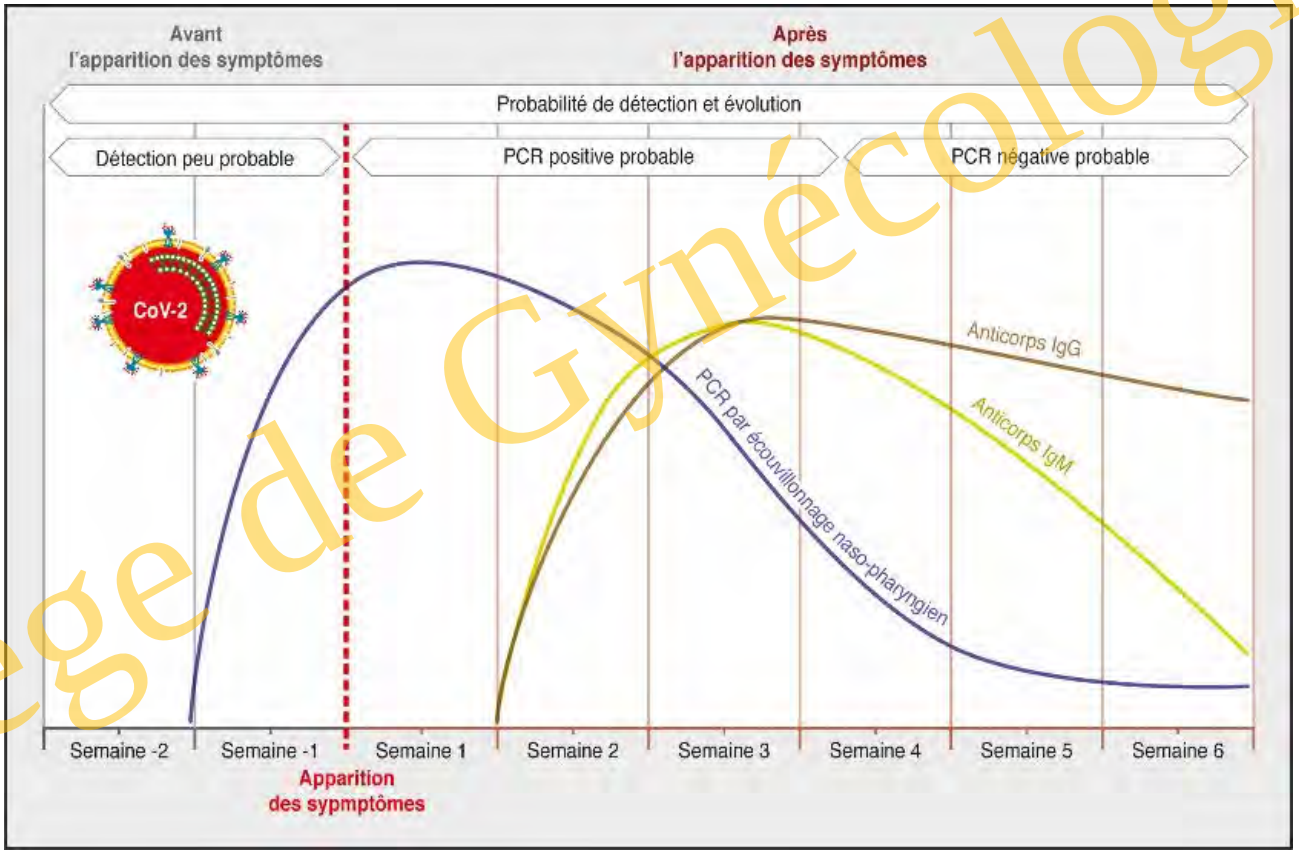
Utilisation de sérologies fiables *pourrait* permettre

- **De réaliser des études de séro-prévalence (à condition que les Ac persistent suffisamment de temps et que l'incidence de la maladie ne soit pas trop faible : risque de faux +)**
  - Mieux décrire la « pyramide » des infections SARS-CoV-2
  - Evaluer le risque épidémique **relatif** et l'intensité des vagues ultérieures dans une région donnée
- **De mobiliser plus facilement les soignants** : une sérologie positive *présageant* d'une immunité probable
- **Théoriquement, contribuer à décider**
  - de lever les mesures de confinement
  - d'assouplir les mesures d'hygiène
  - de reprendre le travail (si risque minimal avec sérologie positive)

Après la première vague épidémique en France, les premières données suggèrent que les sérologies sont **+** chez - de 5 % de la population rendant ces options peu réalistes à ce stade

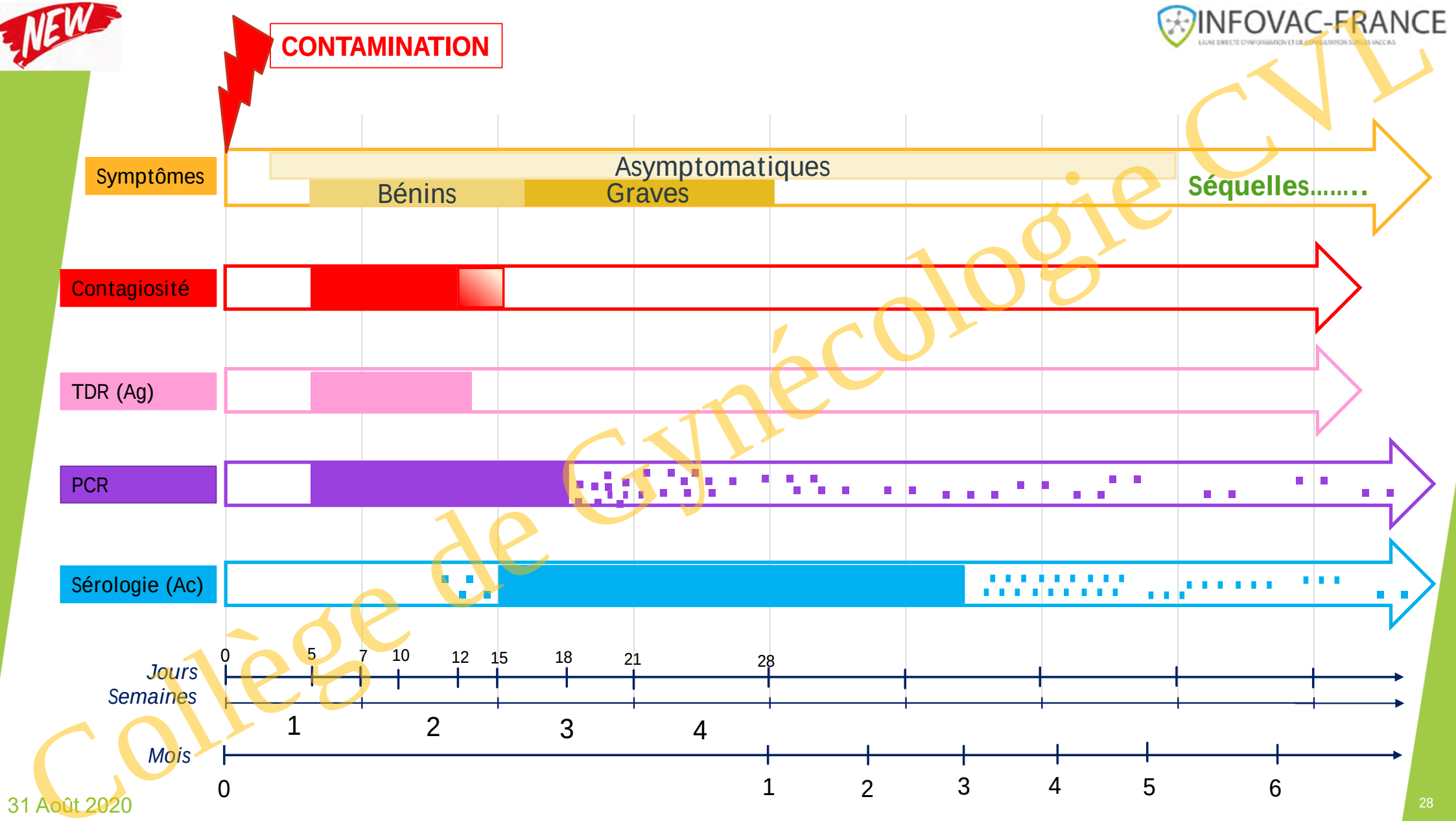
Collège de Gynécologie CVL

Interprétation des méthodes diagnostiques en fonction du stade de l'infection



Courtoisie de Laccourreye et al https://doi.org/10.1016/j.anorl.2020.05.013

Collège de Gynécologie CVL



Collège de Gynécologie CVL

COVID-19 et Immunité : Diagnostic

Profil N°1 +++ Situation la plus fréquente, diagnostic certain

- Tableau clinique compatible, PCR + ou non faite, Sérologie+
- Asymptomatique PCR +, Sérologie +

Profil N° 2 +

- Asymptomatique mais PCR + et sérologie négative
- Asymptomatique mais Sérologie + (même avec une spécificité > 98% quand le virus a peu circulé, faux positifs fréquents)

Profil N°3 +

- Tableau clinique évocateur, PCR + et sérologie négative à distance
- Tableau clinique pathognomonique PCR- sérologie -

Profil N°4 +

- Tableau clinique évocateur + Sérologie + dans un premier temps puis négative 2 mois après

Collège de Gynécologie CVL

Interprétation de résultats de sérologie

	Résultats de la sérologie			
IgM	-	+	+	-
IgG	-	-	+	+
Interprétation	Non immunisé ou test réalisé trop précoce Ou infection ancienne avec perte des Ac.	Infection très récente	Infection récente	Infection ancienne

Après le pic épidémique et en l'absence de nouvelles vagues, **le risque d'avoir une PCR + pourrait être plus important chez les sujets dont la sérologie est positive.**
L'interprétation d'une PCR + dans ce contexte est améliorée par la connaissance de la sérologie

Collège de Gynécologie CVL

INFOVAC-FRANCE

PCR, Sérologie et contagiosité

Tableau IV
Contagiosité en fonction des résultats des tests diagnostiques

PCR	Sérologie	Contagiosité
–	–	Risque de contagiosité très faible
–	+	Pas de risque de contagiosité
+	–	Risque de contagiosité élevé, d'autant plus que la charge virale est élevée, que le patient est symptomatique, que l'on est dans la première semaine de la maladie
+	+	Risque de contagiosité très faible

Collège de Gynécologie CVL

INFOVAC-FRANCE

Distinguer positivité des Ag, PCR, culture virale, sérologie et contagiosité

- **PCR positive n'implique pas que la culture virale soit positive**
  - La culture virale est d'autant plus souvent négative que la charge virale est faible
  - La charge virale faible se traduit en pratique par un nombre de cycles en PCR important pour faire le diagnostic
  - Cycle > 30…Charge virale faible
- **Une culture virale négative rend improbable la contagiosité mais ne l'exclut pas**
- **Une sérologie négative chez un authentique patient COVID-19 peut s'expliquer**
  - **L'examen a été réalisé trop tôt (avant 3 semaines)**
  - **L'examen a été réalisé trop tard (après 2 mois certains patients perdent leur Ac.)**
  - **Enfin d'autres (rarement ne positivent jamais la sérologie)**

Collège de Gynécologie CVL