

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Saad Dahleb Blida 01  
Faculté de médecine  
Département de pharmacie

Thèse d'exercice présenté en vue d'obtention du Diplôme  
« Docteur en PHARMACIE »  
Intitulée de :

# EVALUATION DES TESTS RAPIDES ANTIGENES ET ANTICORPS

Présenté et soutenu par :

**SESSION : JUILLET 2021**

- Melle **TABET Ghofrane**
- Mr **SADALLAH Adlene**

**Jury d'évaluation :**

**Président de Jury : Pr. MAMMERI.K** Maitre de conférences Classe B en Toxicologie

**Examineur : Dr. GUERFL.B** Maitre-assistante en Chimie Thérapeutique

**Encadreur : Dr. BENHAMIDA.S** Maitre-assistante en Pharmacologie

Année universitaire 2020 – 2021



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Saad Dahleb Blida 01  
Faculté de médecine  
Département de pharmacie

Thèse d'exercice présenté en vue d'obtention du Diplôme  
« Docteur en PHARMACIE »  
Intitulée de :

# EVALUATION DES TESTS RAPIDES ANTIGENES ET ANTICORPS

Présenté et soutenu par :

*SESSION : JUILLET 2021*

- Melle **TABET Ghofrane**
- Mr **SADALLAH Adlene**

**Jury d'évaluation :**

**Président de Jury : Pr. MAMMERI.K** Maitre de conférences Classe B en Toxicologie

**Examineur : Dr. GUERFI.B** Maitre-assistante en Chimie Thérapeutique

**Encadreur : Dr. BENHAMIDA.S** Maitre-assistante en Pharmacologie

Année universitaire 2020 – 2021

# Remerciements

Nos premiers remerciements s'adressent d'abord à ALLAH le tout puissant et miséricordieux qui nous a accordé le courage, la force et la patience pour achever ce modeste travail.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce à plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude.

En guise de reconnaissance, on tient à témoigner nos sincères remerciements à notre promotrice :

**Dr: S.BENHAMIDA YAHYAOUI**

Qui a contribué de près ou de loin au bon déroulement de notre projet de fin d'étude et à l'élaboration de ce modeste travail.

Nos sincères remerciements et profondes grâces aux membres du comité de jury :

**Pr. MAMMERI.K et Dr. GUERFI.B.**

De faire membres de jury et de nous avoir fait l'honneur d'accepter de lire et de juger ce travail. Nous vous prions de croire en notre sincère respect et nos considérations plus profondes.

On tient à remercier spécialement le chef service du laboratoire des analyses médicales du centre de transplantation d'organe et de tissu de Blida :

**Dr. OUNAS.S**

Nous remercions **Dr. AMRANI**, qui nous a encadré pendant la durée de notre stage pratique.

Nous remercions aussi **Dr. Boudis, Dr. Merioua, Dr. Moud, Dr. Bendjazia.**

**Belamine Rima, Benaouda Sara, Alaajal Wafa, Chachou Mériem.**

Pour leur patience, leurs accompagnements, leurs conseils pleins de sens et pour le suivi et l'intérêt qu'ils ont portés à notre travail.

Dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.

## **DEDICACES**

On dit souvent que ta famille est la meilleure équipe que tu puisses avoir dans la vie, Ce travail est dédié à eux, mon équipe qui a toujours été là pour moi, les personnes les plus chers à mon cœur, ma *famille*.

*A toi papa*, Tu as su m'apprendre le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie, merci de m'avoir épaulé et encouragé toutes les années de mes études afin que je puisse atteindre mes objectifs, je n'y serai jamais arriver sans les valeurs que tu m'as appris, merci d'être l'exemple à mes yeux.

*A toi maman*, Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. Merci pour tes prières qui n'ont jamais cessé à me tenir debout pendant ces longues années.

A mes chères sœurs, *Wejdane* et *Razane*, merci d'être présentes pendant ma joie et mes détresses, votre soutien m'a été d'un grand secours au long de ma vie. Je vous adore et je vous souhaite autant de succès dans votre vie.

*A ma grand-mère*, ma 2<sup>ème</sup> maman, merci pour ton amour infini et tes prières du fond du cœur qui m'ont toujours protégé et aidé à surmonter la vie

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer la profonde gratitude et l'immense amour que je vous porte pour les efforts et sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien être. Puisse le tout puissant vous donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour.

Aux belles âmes que j'ai rencontrées à Blida pendant mon cursus universitaire,

- Mes amies *Aya Temamra*, *Hasna Maataoui* et *Salmi Imene*, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.
- Mes très chères collègues qui ont partagé mon aventure *Nor ElHouda Zahaf*, *Samira Ait Yahia* et *Rym Abbani* merci de m'avoir accepté parmi vous, de m'avoir comblé de bonne humeur, et d'avoir rendu mes années à Blida un peu plus agréables

Mes beaux souvenirs avec vous ne seront jamais oubliés.

A mes amies d'enfance, celles qui sont les plus chères à mon cœur, *Chahinez Esserhane*, *Ikram Kouidri* et *Mililya Bacha*, vous serez toujours ma deuxième famille merci beaucoup pour votre présence et votre soutien, je vous aime.

*A toute personne, de près ou de loin, qui a cru en moi, Merci*

**Ghofrane TABET.**

**J**e dédie ce travail

*A ma petite famille*, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études, vous êtes ma source de joie et de bonheur.

*A toi ma Mère*

Aucune dédicace ne pourra compenser tes sacrifices pour moi.

Ton affection me couvre, ta bienveillance me Guide, et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force

Pour affronter les différents obstacles.

*A toi mon père*

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier Comme il ne doit.

Tu as toujours été là à mes cotes pour me soutenir et m'encourager.

Tes sacrifices et tes conseils m'ont permis de devenir l'homme

Que je suis aujourd'hui.

*A mes adorables sœurs Ibtissem et Rania*

*Qui m'ont toujours soutenue.*

*A mon cousin Sami mon frère et mon bras droit.*

*A mes amis Sami Mohamed, et Mamaar Chougrani.*

*A mes collègues Ismail Soheib, Aymen Embarek, Benboussad Yacine, Hassene Menoueri, Chemssedine Laroussi.*

*A toute personne qui m'a aidé, est encouragé.*

***ET à toute la communauté scientifique.***

*Hommage à mon grand-père qui a décédé cette année suite à une complication du COVID-19*

*Que dieu tout puissant t'accorde son infinie miséricorde et*

*T'accueille dans Son éternel paradis*

*Tu resteras pour toujours graver dans nos cœurs.*

.....***Sadallah Adlene.***

*« Le succès est la somme de petits efforts, répétés jour après jour »*

*Leo Robert collier.*

*« Success consists of going from failure to failure without loss of enthusiasm »*

*-Winston Churchill.*

## **LISTE DES TABLEAUX :**

TABLEAU 1 : Classification des sept coronavirus humains et année de leur identification.....	22
TABLEAU 2 : Classification du SARS-CoV-2.....	22
TABLEAU 3 : Liste des tests rapides antigéniques importés en Algérie par les autorités Algériennes .....	44
TABLEAU 4 : Liste et performance des tests rapides antigènes fabriquées localement en Algérie.....	45
TABLEAU 5 : Comparaison de la sensibilité et la spécificité entre les différents tests antigènes utilisés en Algérie.....	45
TABLEAU 6 : Performances analytiques des Tests rapides Anticorps et Test Chimiluminescences importés en Algérie.....	47
TABLEAU 7 : Performances Analytiques des tests rapides anticorps fabriqués en Algérie.....	47
TABLEAU 8 : Nombre des patients positifs et des patients négatifs au test rapide antigénique .....	58
TABLEAU 9 : Programmation du Thermocycleur.....	65
TABLEAU 10 : Nombre des patients positifs et des patients négatifs à la PCR.....	70
TABLEAU 11 : Résultats des tests Panbio COVID-19 Ag rapid et de la RT-PCR.....	71
TABLEAU 12 : Résumé des paramètres de performances analytiques du Test Rapide PANBIO calculés .....	73

## **LISTE DES FIGURES :**

FIGURE 1 : interprétation de résultat de test antigénique COVID-19.....	4
FIGURE 2 : interprétation de résultats des tests rapides sérologique COVID-19.....	5
FIGURE 3 : Distribution des populations dans le cas d'un test quantitatif.....	8
FIGURE 4 : Structure schématique d'une immunoglobuline.....	11
FIGURE 5 : Principe de l'immunochromatographie par sandwich .....	14
FIGURE 6 : Principe de l'immunochromatographie par compétition.....	15
FIGURE 7 : Exemple d'agglutination directe avec des anticorps agglutinants d'isotype IgG (en haut) ou IgM (en bas) reconnaissant un antigène (en bleu) présent à la surface des particules agglutinées.....	17
FIGURE 8 : Interprétation des résultats d'une agglutination.....	18
FIGURE 9 : Test rapide utilisant la technique ELISA.....	19
FIGURE 10 : Structure du SARS-CoV-2.....	23
FIGURE 11 : Organisation génomique du SARS-CoV-2.....	24
FIGURE 12 : Description et projection de la cinétique de la réponse immunitaire à l'infection causée par le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2 (SRAS-CoV-2).....	29
FIGURE 13 : Graphe représentant le pourcentage des symptômes du COVID-19 dans la population étudiée...	49
FIGURE 14 : Répartition des patients inclus dans l'étude selon le sexe.....	50
FIGURE 15 : Matériel de protection.....	51
FIGURE 16 : Fiche de renseignement.....	53
FIGURE 17 : Remplissage du tube.....	55
FIGURE 18 : Prélèvement nasopharyngé.....	56
FIGURE 19 : distribution des gouttes d'échantillon dans le puit d'échantillon d'appareil.....	57
FIGURE 20 : Contrôle positif et négatif.....	58
FIGURE 21 : Pourcentage des patients positifs et négatifs au test antigénique.....	59
FIGURE 22 : Ecouvillon nasopharyngé de la PCR.....	59
FIGURE 23 : Identification des microtubes.....	62
FIGURE 24 : Pipetage de l'AVL.....	62
FIGURE 25 : Pipetage de l'échantillon.....	63
FIGURE 26 : Colonne de silice mise dans le tube.....	63
FIGURE 27 : Centrifugation des microtubes a 8000 rpm.....	64
FIGURE 28 : La mise des strips dans la plaque à Strips.....	66

FIGURE 29 : La mise de la plaque a strips dans le Thermocycleur.....	66
FIGURE 30 : Les étapes de la RT-PCR.....	67
FIGURE 31 : Courbe d'échantillon positif.....	69
FIGURE 32 : Pourcentage des patients positif et des patients négatifs à la PCR.....	70
FIGURE 33 : Taux des faux négatifs parmi les 43 résultats antigéniques négatifs au COVID19.....	71
FIGURE 34 : Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et négatives d'un test.....	72

### **LISTE DES ABREVIATIONS :**

TDR = Test diagnostic rapide

Ag = antigène

Ac = anticorps

Elisa = enzyme-linked immunosorbent assay, ou « dosage immuno-enzymatique sur support solide ».

RT-PCR = amplification en chaîne par polymérase par transcriptase inverse

OMS = Organisation mondiale de la santé

Se = sensibilité

Sp = Spécificité

VPP = valeur prédictive positive

VPS = valeur prédictive négative

# **TABLE DE MATIERES**

**Remerciement**

**Dédicaces**

**Liste de tableaux**

**Liste de figures**

**Liste des abréviations**

**INTRODUCTION**

## **CHAPITRE I**

« Présentation générale des tests de diagnostic rapide »

<b>I.1 Définitions et généralités</b> .....	3
<b>I.1.1 Historique</b> .....	3
<b>I.1.2 Définitions des autorités compétentes des tests de diagnostic rapide</b> .....	3
<b>I.1.2.1 Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro</b> .....	3
<b>I.1.2.2 Test de diagnostic rapide</b> .....	3
<b>I.1.3 Tests rapides antigènes COVID-19</b> .....	4
<b>I.1.4 Tests rapides anticorps COVID-19</b> .....	5
<b>I.2 Caractéristiques générales des tests de diagnostic rapide</b> .....	6
<b>I.2.1 Rapidité</b> .....	6
<b>I.2.2 Simplicité</b> .....	6
<b>I.2.3 Limitations</b> .....	6
<b>1.3 Performance d'un test rapide</b> .....	6
<b>I.3.1 Spécificité</b> .....	7
<b>I.3.2 Sensibilité</b> .....	7
<b>1.3.3 Valeurs prédictives</b> .....	7
<b>I.3.4 Seuil de détection</b> .....	8
<b>I.4 Principe Immunologique des tests de diagnostic rapide</b> .....	9
<b>I.4.1 Rappel immunologique</b> .....	9
<b>I.4.1.1 Antigène comme réactif</b> .....	9
<b>I.4.1.1.1 Définition et caractéristiques</b> .....	9
<b>I.4.1.1.2 Propriétés des antigènes influant sur les méthodes de dosage</b> .....	9

<b>I.4.1.2 Anticorps comme réactifs</b> .....	10
<b>I.4.1.2.1 Rappel sur les anticorps</b> .....	10
<b>I.4.1.2.2 Production des anticorps poly clonaux</b> .....	12
<b>I.4.1.2.3 Production des anticorps monoclonaux</b> .....	12
<b>I.4.1.2.4 Conservation des anticorps</b> .....	12
<b>I.4.1.2.5 Intérêts respectifs des anticorps poly clonaux et monoclonaux</b> .....	12
<b>I.4.1.3 Thermodynamique de la réaction antigènes-anticorps</b> .....	13
<b>I.4.2 Méthodes immunochromatographique</b> .....	13
<b>I.4.2.1 Principe et fonctionnement</b> .....	13
<b>I.4.2.2 Caractéristiques internes</b> .....	16
<b>I.4.2.3 Interprétations</b> .....	16
<b>I.4.3 Méthode d'agglutination</b> .....	16
<b>I.4.3.1 Principe et fonctionnement</b> .....	16
<b>I.4.3.2 Caractéristiques internes</b> .....	17
<b>I.4.3.3 Interprétation</b> .....	18
<b>I.4.4 Méthode immuno-enzymatique ELISA</b> .....	18
<b>I.4.4.1 Principe et fonctionnement</b> .....	18
<b>I.4.4.2 Caractéristiques internes</b> .....	18

## **CHAPITRE II**

### **« Présentation générale de la COVID-19 »**

<b>II.1 COVID-19</b> .....	21
<b>II.1.1 SARS-CoV-2</b> .....	21
<b>II.1.1.1 Classification et phylogénie</b> .....	21
<b>II.1.1.2 Structure et génomique</b> .....	23
<b>II.1.1.3 Infection cellulaire et cycle de réplication</b> .....	24
<b>II.1.1.4 Rôle paradoxal de l'ACE2</b> .....	25
<b>II.1.1.5 Voies de transmissions</b> .....	25
<b>II.1.2 Présentation clinique</b> .....	25
<b>II.1.2.1 Symptomatologie</b> .....	25
<b>II.1.2.2 Complication</b> .....	26

II.1.2.3 Gravité et facteur de risque de gravité .....	26
II.1.3 Diagnostic .....	26
II.1.3.1 Imagerie .....	27
II.1.3.2 Technique de biologie moléculaire RT-PCR .....	27
II.1.3.2.1 Méthode de prélèvement .....	27
II.1.3.2.2 Principe et caractéristique .....	27
II.1.3.3 RT-LAMP .....	28
II.1.3.4 Tests de diagnostic rapide antigénique .....	28
II.1.3.5 Tests sérologiques .....	28
II.1.3.5.1 Evolution des anticorps sériques .....	29
II.1.3.5.2 ELISA .....	30
II.1.3.5.3 Test sérologiques rapides .....	30
II.1.4 traitement .....	30
II.1.5 Vaccination .....	31
II.1.5.1 Vaccins à ARN .....	31
II.1.5.2 Vaccins vectoriels .....	31
II.1.5.3 Vaccins à base de protéines recombinante et particules de type virus .....	32
II.1.5.4 Vaccin anti COVID-19 entier inactivé .....	32

### **CHAPITRE III**

#### **« Place des tests rapides dans le dépistage du COVID-19 »**

III.1 Place des tests rapides dans la stratégie de la prise en charge du COVID-19 .....	34
III.1.1 Mise au point de l’OMS sur les tests rapides .....	34
III.1.2.1 Situations dans lesquelles il est déconseillé d’utiliser les tests antigéniques du SARS-CoV-2 selon l’OMS .....	35
III.1.2.2 Définition d’un cas suspect .....	36
III.2 Approvisionnement des tests rapides en Algérie .....	36
III.2.1 Pandémie du COVID-19 et situation sanitaire en Algérie .....	36
III.2.2 Début de l’approvisionnement des tests de diagnostic rapide en Algérie .....	37
III.3 Facilitation de l’approvisionnement du marché national en tests de diagnostics rapides en riposte à la pandémie du COVID 19 en Algérie .....	37
III.4 Mesures de dédouanement simplifié dans le cadre de la lutte contre la pandémie COVID 19 .....	38

<b>III.5 Lancement de l'Algérie dans la production locale des tests de diagnostic rapide</b> .....	40
<b>III.6 Plafonnement des prix des tests de diagnostic rapide</b> .....	41
<b>III.7 Tests rapides à usage unique utilisé pour détecter les IgG après vaccination</b> .....	41

## **CHAPITRE IV**

« Partie Pratique »

<b>IV.1 Etude comparative des tests rapides antigènes et anticorps utilisés en Algérie</b> .....	44
<b>IV.1.1 Objectif</b> .....	44
<b>IV.1.2 Matériel</b> .....	44
<b>IV.1.3 Liste des tests rapides antigènes importés par les autorités Algériennes</b> .....	44
<b>IV.1.4 Liste des tests rapides antigènes fabriqués localement en Algérie</b> .....	45
<b>IV.1.5 Comparaison de la sensibilité et la spécificité entre les différents tests antigènes utilisés en Algérie</b> .....	45
<b>IV.1.6 Résultat</b> .....	46
<b>IV.1.7 Liste des tests rapides anticorps et tests de chimiluminescence importés en Algérie</b> .....	46
<b>IV.1.8 Liste des tests rapides anticorps fabriqués localement en Algérie</b> .....	47
<b>IV.1.9 Résultat</b> .....	47
<b>IV.2 Etude prospective des performances analytiques d'un test antigénique utilisé en Algérie</b> .....	47
<b>IV.2.1 Objectif</b> .....	48
<b>IV.2.2 Matériel et méthode d'étude</b> .....	48
<b>IV.2.3 Test de diagnostic rapide antigénique</b> .....	54
<b>IV.2.4 Recherche du SARS-CoV-2 par RT-PCR</b> .....	59
<b>IV.2.5 Résultat Global et calculs</b> .....	70
<b>IV.2.6 Discussion</b> .....	73
<b>IV.2.7 Contraintes</b> .....	75

## **CONCLUSION**

# **INTRODUCTION**

## Introduction

Depuis Décembre 2019, le monde souffre d'une crise sanitaire qu'on n'avait pas subis depuis des décennies, Le SARS-CoV-2 est le nom officiel du nouveau coronavirus identifié le 9 janvier 2020 dans la ville de Wuhan, en Chine. Il est l'agent étiologique de la pandémie de pneumopathie infectieuse qui s'est répandue en Chine et dans le monde entier à partir de fin Décembre 2019. Cette maladie a été nommée COVID-19 par l'OMS, le 11 février 2020.

L'OMS sonne l'alarme du danger, et on se trouve dans une course contre le virus pour protéger l'humanité. Avec des milliers de cas confirmés par jour dans le monde, principalement dus à l'haute contagiosité du virus, les autorités sanitaires devaient prendre des décisions dans une situation d'une grande incertitude. Le diagnostic est une partie intégrante de la lutte contre la pandémie du COVID-19 et le dépistage se trouve comme étape essentielle pour sa gestion et la diminution de la propagation du virus à une telle vitesse.

Depuis l'émergence du SARS-CoV-2, le test de référence pour le dépistage du virus dans la phase aigüe était et reste à ce jour ci la RT-PCR, une technique d'amplification des acides nucléique, qui détecte la présence du génome viral du SARS-Cov-2 dans l'organisme. Malgré son haute sensibilité cette technique se révèle à avoir des inconvénients, tel que le long délai de l'acquisition de résultats ou son cout très cher qui menace la situation économique. Par conséquence la pandémie du COVID-19 a mobilisé la communauté scientifique vers la recherche et le développement industriel de tests spécifiques plus rapides et moins couteux pour le dépistage et le diagnostic de l'infection par le virus SARS-CoV-2, dont les tests de diagnostic rapide antigéniques et sérologiques

La présente évaluation a pour objectif de définir la place des tests de diagnostic rapide dans la prise en charge et le dépistage de la maladie COVID-19, étudier leurs performances analytiques par rapport aux techniques de référence, et comprendre leurs caractéristiques et leurs modes de fonctionnement.

Ce travail a pour but d' avoir une idée sur l'ensemble de tests de diagnostic rapide utilisés en Algérie importés ou fabriqués localement, une étude comparative a été réalisé afin d'observer les performances analytique de chacun d'eux d'après les données fournis des fabricants, en plus d'une étude prospective des performances analytiques d'un test rapide antigéniques spécifique désigné : « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » qui est abondamment utilisé à travers les laboratoires du territoire algérien, dont le laboratoire central de biologie médicale du centre de transplantation d'organe et de tissu de Blida ou on a effectué notre étude, afin de comparer ses performances analytiques à un test de référence, RT-PCR, et définir la concordance globale de ses résultats à cette dernière, pour évaluer son utilité diagnostique.

# **CHAPITRE I**

**« Présentation générale des tests de diagnostic rapide »**

## **I.1 Définitions et généralités**

### **I.1.1 Historique**

La notion de diagnostic rapide n'est pas récente, le concept des tests de diagnostic rapide basés sur les fluides corporels remonte beaucoup plus loin. Des preuves documentées de diagnostics basés sur la salive et l'urine existaient il y a plusieurs milliers d'années. Les anciens Chinois ont été parmi les premiers documentés utilisateurs de diagnostics basés sur la salive et l'un des premiers enregistrements écrits d'un test de diagnostic basé sur l'urine pour la grossesse peut être trouvé dans des documents de l'Égypte ancienne. Mais Malgré tous les efforts à travers les âges, ce n'était que jusqu'au milieu du XXe siècle que la majorité des méthodes de diagnostic rapide acquies une réelle valeur prédictive. La base technique du dosage immunologique à flux latéral a été dérivée du test d'agglutination au latex, dont le premier a été développé en 1956 par Plotz et Singer. Au cours de la même période, des dosages immunologiques sur plaque étaient en cours de développement. Le premier radio-immunoessai (RIA) a été inventé par Berson et Yalow dans le Années 1950, alors que le dosage immunoenzymatique (EIA) a été introduit dans les années 1960. Les principes de base de la technologie d'écoulement latéral ont continué d'être affinés au début des années 1980 et ont été fermement établis au cours de ces dernières années de cette décennie [1]. L'application des tests rapides s'est étendue, et depuis l'apparition de nouvelles technologies, leur principe d'analyse connaît une explosion en particulier dans les domaines de la biochimie et de l'immunologie. Malgré leurs nombreux avantages, ces tests rapides laissent de nombreux biologistes et cliniciens à craindre le mésusage, les abus d'utilisation ou les erreurs de diagnostic de la part du personnel spécialisé ou du patient lui-même [2].

### **I.1.2 Définition des autorités compétentes des tests de diagnostic rapide**

#### **I.1.2.1 Dispositifs médicaux de diagnostic in vitro :**

D'après l'article 213 de la loi n° 18-11 du 18 Chaoual 1439 correspondant au 2 juillet 2018 relative à la santé, « *Sont également considérés comme dispositifs médicaux ceux utilisés dans le diagnostic in vitro : les produits, réactifs, matériaux, instruments et systèmes, leurs composants et accessoires, ainsi que les récipients pour échantillons, destinés spécifiquement à être utilisés in vitro, seuls ou en combinaison, dans l'examen d'échantillons provenant du corps humain, afin de fournir une information concernant un état physiologique ou pathologique, avéré ou potentiel, ou une anomalie congénitale, pour contrôler des mesures thérapeutiques, ou pour déterminer la sécurité d'un prélèvement d'éléments du corps humain ou sa compatibilité avec des receveurs potentiels.* » [3].

#### **I.1.2.2 Test de diagnostic rapide**

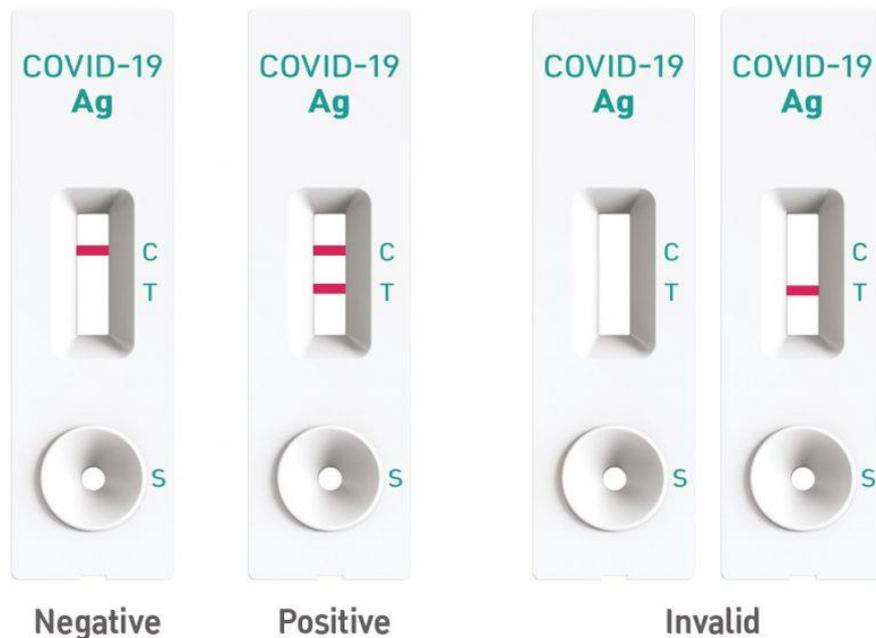
Les tests de diagnostic rapide définis par l'Union européenne sont des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro qualitatif ou semi-quantitatif, faisant appel à des procédures non automatisées et conçus pour donner un résultat rapide [4]. Selon l'OMS les tests rapides sont conçus pour être utilisés lorsqu'un résultat de test de dépistage préliminaire est requis et sont également décrits comme des tests de haute qualité, faciles à utiliser pour une utilisation dans

des environnements pauvres en ressources. Basés sur des techniques d'agglutination, d'immuno-dot, d'immuno-chromatographie et / ou d'immunofiltration, ils sont dit rapide et facile à réaliser - 10 minutes à 2 heures - et nécessite peu ou pas d'équipement supplémentaire, avec possibilité de stocker à température ambiante pendant une période prolongée. Ils sont conçus pour être utilisés avec des échantillons individuels ou un nombre limité d'échantillons, ce qui les rend plus économiques que les ELISA dans les laboratoires à faible débit [5].

### I.1.3 Tests rapides antigènes COVID19

Comme leur nom l'indique les tests antigéniques s'intéressent à l'antigène, en détectant la présence du virus ou de fragments de virus SARS-CoV-2, similairement à la RT-PCR, il permet le diagnostic précoce de la maladie dès la phase aiguë, Le test antigénique est réalisé sur les mêmes prélèvements nasopharyngés que la PCR ou des prélèvements des voies respiratoires basses. Sachant que les tests antigéniques sont moins sensibles que les tests PCR vu qu'ils ne détectent que les personnes ayant une charge virale importante.

Le test antigénique est un test manuel à lecture directe, réalisé par des professionnels de santé, les particules récupérées au fond du nez sont mélangées avec un réactif sur une bandelette ou dans un tube afin de produire une réaction chimique, on obtient le résultat dans 15 à 20 minutes (parfois jusqu'à 30 minutes) qui est considéré comme résultat très rapide, vue que le test induit une technique d'analyse simplifiée et ne nécessite pas d'analyse lourde en laboratoire. Si le prélèvement contient bien les antigènes du coronavirus, il apparaîtra une bande colorée après 15 minutes [FIGURE 1].



**Please read the results within 15 minutes.**

**FIGURE 1 : interprétation de résultat de test antigénique COVID-19.**

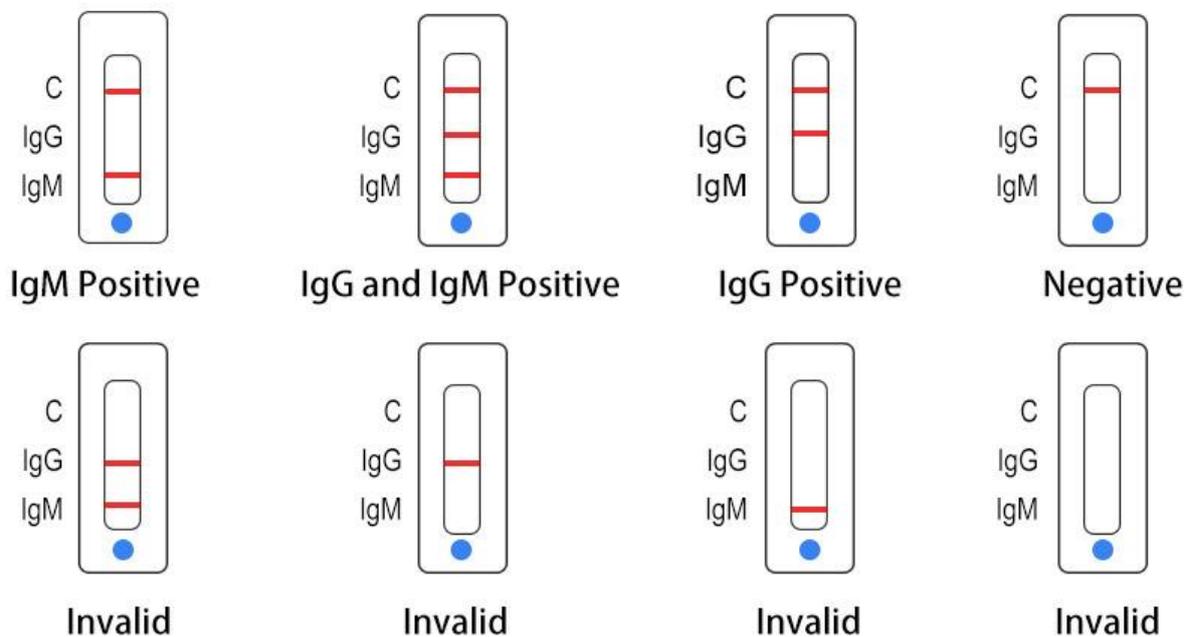
Le test antigénique permet d'affirmer la présence du virus lorsque l'examen est positif et donc réponds à la question : "Le patient est-il oui ou non atteint du Covid-19 ?" il est a noté que le test antigénique révèle si la personne testée est actuellement contaminée par le coronavirus et non si elle a déjà été infectée par le passé [6][7].

#### I.1.4 Tests rapides anticorps COVID19

Le test rapide pour le diagnostic du SARS-COV2 permet une détection qualitative des IgG/IgM dans le sérum, sang total ou plasma humain en dix à quinze minutes environ.

Ces tests rapides sont basés sur le principe de l'immunochromatographie et sont disponibles sous forme de cassette. Cette technique permet la séparation des composants d'un mélange à travers un milieu en utilisant la force capillaire et la liaison spécifique et rapide d'un anticorps à son antigène.

Les anticorps IgM et / ou IgG, s'ils sont présents, se lient aux antigènes du SARS-COV-2, formant ainsi des complexes antigène-anticorps. Ce complexe migre par capillarité à travers la membrane de nitrocellulose [8]. Pour être validé, ce test doit présenter une ligne positive pour le contrôle (C) [FIGURE 2].



**FIGURE 2 : interprétation de résultats des tests rapides sérologique COVID-19.**

Ces tests ne permettent pas de faire un diagnostic précoce de l'infection puisque la production d'anticorps spécifiques par le système immunitaire prend un certain temps qui peut varier de quelques jours à quelques semaines [9]. La production d'IgM et/ou d'IgG est détectable chez les patients symptomatiques à partir de la deuxième semaine suivant l'apparition des symptômes [10] Donc les tests Peuvent être utilisés à partir d'une semaine après l'apparition

des symptômes et de façon optimale chez tous les patients au 14<sup>ème</sup> jour et répondent pour le moment à la question “le patient a-t-il déjà rencontré le virus et a-t-il fabriqué des anticorps ?” [6].

## **I.2 Caractéristiques générales des tests de diagnostic rapide**

### **I.2.1 Rapidité**

Les trois étapes d'analyse sont réduites. Le temps de l'étape pré-analytique résultante du prélèvement de l'échantillon sur le patient, diminue en particulier car on s'épargne de tout transport vers le laboratoire. La deuxième étape analytique est réalisée sans aucune intervention spécifique sur le prélèvement. Finalement, l'étape post-analytique ou d'interprétation, est aisée. En effet, lire les résultats est aussi simple que de transmettre des informations au clinicien. Par conséquent, le TTAT ou « *Therapeutic Turn-Around Time* » qui correspond au temps entre la prescription du test par le médecin et le rendu des résultats, est donc diminué [11][12].

### **I.2.2 Simplicité**

L'opération s'agit uniquement de déposer un prélèvement de qualité dans la zone absorbante, le test lui-même qui est très simple pour l'opérateur est également facile à lire, et convient donc à divers professionnels de la santé [11].

### **I.2.3 Limitations**

Un opérateur doit connaître les limites du test rapide afin de pondérer les résultats et d'obtenir une meilleure interprétation. Ceux-ci peuvent être liés aux éléments environnementaux tels que la qualité du prélèvement de l'échantillon qui doit s'effectuer dans des conditions optimales et par un personnel formé. D'autre part, les limites peuvent être dues à des conditions ou des éléments intrinsèques aux tests. Des réactions croisées ou des interactions avec les réactifs sont à prévoir et à analyser puisqu'elles sont responsables de faux positifs ou faux négatifs. Finalement, l'interprétation est fondamentale dans ces tests et devra être effectuée par des opérateurs formés [11].

## **I.3 Performance d'un test rapide**

Les tests de diagnostic rapides doivent être évalués avant d'envisager leur utilisation. Par conséquent, un jugement est porté sur leurs capacités à atteindre leur objectif par rapport à une situation de référence pour pouvoir étayer une hypothèse diagnostique d'une manière fiable et pertinente. Les paramètres utilisés dans le cadre de tous les tests de diagnostic sont la sensibilité (Se), la spécificité (Sp), les seuils de détection, les valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN).

### **I.3.1 spécificité**

La spécificité est par définition la probabilité que le test soit négatif, parmi les sujets non malades ; c'est-à-dire la proportion de personnes ayant un test négatif, sachant que les personnes testées ne sont pas malades. Elle se calcule en divisant le nombre de personnes saines ayant un test négatif (vrais-négatifs) par le nombre de personnes saines (vrais-négatifs + faux-positifs). Elle mesure donc la capacité d'un test à ne détecter qu'un seul type de maladie. Tout comme la sensibilité, théoriquement elle devrait être de 100 %, ce qui est rarement le cas dans la pratique. Plus la spécificité est proche de 100 %, moins il y a de faux-positifs et meilleur est le test [13].

### **I.3.2 sensibilité**

La sensibilité est par définition la probabilité que le test soit positif, parmi les sujets malades ; c'est-à-dire la proportion de personnes ayant un test positif, sachant que les personnes testées sont toutes malades. Elle se calcule en divisant le nombre de malades ayant un test positif (vrais positifs prouvés par le gold standard) par le nombre de personnes malades (vrais-positifs + faux-négatifs). Elle mesure donc la capacité d'un test à détecter les malades. Théoriquement elle devrait être de 100 % (tous les malades ont un test positif). Dans la pratique elle est souvent inférieure à 100 %. Plus elle est proche de 100 %, moins il y a de faux-négatifs et meilleur est le test [13].

### **I.3.3 valeurs prédictives**

La sensibilité et la spécificité du test permettent de définir les caractéristiques inhérentes du test, mais cela dépend rarement de la prévalence de la maladie (la fréquence de la maladie dans une population donnée). Elles ne peuvent pas prédire quand une personne est vraiment malade si un test est positif ou saine quand il est négatif, Pour cela il existe deux autres paramètres : la valeur prédictive positive (VPP) et négative (VPN) pour répondre à la question posée par le médecin.

La valeur prédictive positive est la probabilité d'être malade sachant que le test est positif, c'est-à-dire la proportion de personnes réellement malades parmi celles qui ont un test positif. Elle se calcule en divisant le nombre de personnes malades et ayant un test positif (vrais-positifs) par le nombre de personnes ayant un test positif (vrais-positifs + faux positifs). Plus cette valeur est proche de 100 % plus le nombre de faux-positifs (ou de personnes faussement considérées comme malade par le test) est faible, et plus le patient a de « chance » d'être malade en cas de test positif.

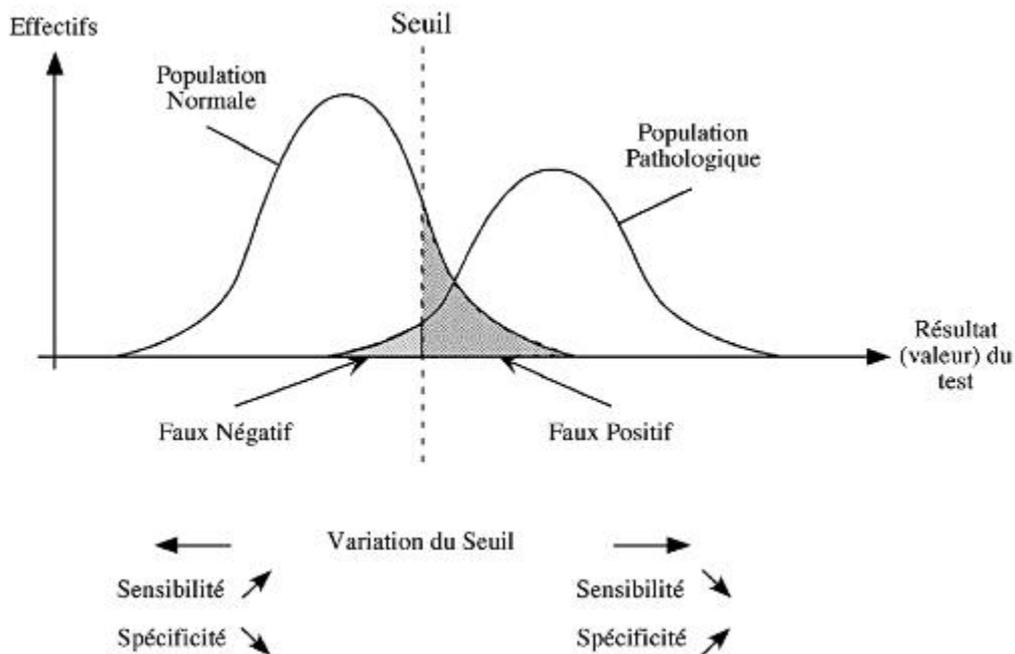
De même, la valeur prédictive négative est la probabilité de ne pas être malade sachant que le test est négatif, c'est-à-dire la proportion de personnes réellement saines parmi celles ayant un test négatif. Elle se calcule en divisant le nombre de personnes saines et ayant un test négatif (vrais-négatifs) par le nombre de personnes ayant un test négatif (vrai négatif + faux-négatifs). Plus elle est proche de 100 %, plus le nombre de faux-négatifs est faible, et plus le patient a de chance de ne pas être malade en cas de test négatif.

En bref, plus la prévalence d'une maladie est forte, plus la valeur prédictive positive est proche de 100 % et la valeur prédictive négative de 0 %. Meilleure est la sensibilité du test et meilleure sera la VPN ; de même, meilleure est la spécificité et meilleure sera la VPP [13].

### I.3.4 seuil de détection

Un test de diagnostic peut être qualitatif ou aucune information n'est donnée sur l'importance du dosage, comme il peut être quantitatif d'où l'importance de déterminer un seuil à partir duquel le test est considéré positif. La difficulté réside dans la détermination de ce seuil.

La FIG. 3 montre la répartition d'un paramètre dans une population saine et dans une population malade. Les valeurs de ce paramètre sont faibles dans la population saine (courbe de gauche), et élevées dans la population malade (courbe de droite). Certaines personnes saines ont des taux plus élevés que des personnes malades. Le choix du seuil tient compte de ces personnes, ainsi s'il est très élevé, seules les personnes malades peuvent avoir un tel taux, minimisant les faux positifs, mais maximisant les faux-négatifs ; et inversement s'il est très faible, beaucoup de personnes saines sont considérées comme malades, maximisant les faux-positifs, et minimisant les faux-négatifs. [FIGURE 3] Cela revient à dire qu'un seuil élevé favorise la spécificité (absence de faux-positif) et qu'un seuil faible favorise la sensibilité (aucun faux-négatif).



**FIGURE 3 : Distribution des populations dans le cas d'un test quantitatif.**

Lors de l'instauration d'un test, les possibilités sont soit de privilégier les faux-positifs et ainsi préférer un seuil élevé ; soit de privilégier les faux-négatifs et ainsi préférer un seuil bas ; soit de rester neutre avec un seuil intermédiaire [13].

## **I.4 Principe immunologique des tests diagnostique rapides**

### **I.4.1 Rappel immunologique**

#### **I.4.1.1 Antigène comme réactif**

##### **I.4.1.1.1 Définition et caractéristiques**

Le terme d'antigène désigne une espèce moléculaire biologique ou synthétique reconnue par un récepteur spécifique du système immunitaire (e.g. immunoglobulines, récepteurs des lymphocytes B ou T). L'antigénicité désigne la capacité de la molécule à être reconnue spécifiquement par un récepteur. L'immunogénicité traduit la capacité d'un antigène à induire une réponse immunitaire.

Un antigène peut être tolérogène lorsque sa reconnaissance n'induit pas de réponse immunitaire. Un épitope correspond à la structure minimale d'un antigène reconnue par une partie limitée pour le récepteur de l'antigène, appelée paratope. Un antigène peut être constitué d'une mosaïque d'épitopes. La structure d'un épitope dans l'espace (ou structure stéréochimique) peut être séquentielle (ou linéaire) ou conformationnelle (structures secondaire, tertiaire ou quaternaire). Des modifications post-traductionnelles (e.g. glycosylation, phosphorylation, méthylation) peuvent changer la structure des épitopes. La structure native d'une protéine est généralement conformationnelle et comprend des modifications post-traductionnelles. Un antigène mimétique possède un épitope stéréochimique (mimotope) dont la structure peut être proche de ou identique à celle d'un autre épitope porté par une molécule différente. Ce type d'antigènes peut être à l'origine de réactions croisées.

Les antigènes peuvent être des protéines, des polysaccharides, des lipides, des acides nucléiques, des métaux, des molécules de synthèse ou des molécules complexes (e.g. glycolipides, glycoprotéines).

Selon leur origine, on distingue les antigènes non immunogènes ou haptènes, les antigènes propres à une espèce différente ou xéno-antigènes, propres à des individus différents dans la même espèce ou allo-antigènes, propres à un individu donné ou auto-antigènes et les néo-antigènes, formés de novo par transformation de l'antigène originel ou issus de la combinaison de plusieurs molécules [14].

##### **I.4.1.1.2 Propriétés des antigènes influant sur les méthodes de dosage**

L'ensemble des propriétés des antigènes peut avoir un impact dans le cadre de la biologie médicale (dosages de protéines, d'anticorps).

Un antigène est natif s'il a conservé l'ensemble de ses propriétés, c'est-à-dire sa conformation et ses Modifications. Dans le cas où les modifications post-traductionnelles sont essentielles à la reconnaissance par le récepteur, produire un épitope recombinant non modifié chez un procaryote peut conduire à perturber la reconnaissance par les anticorps.

La dénaturation ou la dégradation d'un antigène peut conduire à une perte de reconnaissance par les récepteurs spécifiques.

Les antigènes multivalents Facilitent la formation des complexes immuns, deux sites antigéniques sont nécessaires (au minimum) pour les tests ELISA de type sandwich. Pour les méthodes compétitives, un épitope monovalent peut être utilisé. La multivalence est indispensable pour les Méthodes d'agglutination et de précipitation.

À la composante structurale des antigènes, qui pèse sur l'interaction fine avec le récepteur spécifique, s'ajoute donc une autre composante essentielle : les concentrations de l'antigène et de ses récepteurs spécifiques disponibles. Ces concentrations respectives conditionnent la qualité de la réaction immunitaire tant in vivo qu'in vitro ou, de façon plus ciblée, la capacité de certains immunodosages à révéler l'interaction antigène-récepteur. En fonction des concentrations en antigènes et anticorps, des complexes immuns de taille variable peuvent se former.

Les propriétés d'agglutination ou de précipitation des complexes immuns peuvent être mises à profit pour révéler la présence d'antigènes ou d'anticorps et même en évaluer les concentrations dans les immunodosages. La formation de complexes immuns nécessite que les antigènes présentent au moins deux épitopes accessibles aux anticorps. Les anticorps de classe IgM, avec leurs dix sites d'interaction potentiels avec l'antigène, sont ainsi plus efficaces que les IgG (bivalentes) pour la formation de ces complexes.

Outre sa structure intrinsèque, qui peut se résumer à la séquence peptidique d'un antigène, d'autres éléments tels que les modifications post traductionnelles, la concentration ou le site d'expression conditionnent la qualité de la reconnaissance de l'antigène par un récepteur spécifique, et par conséquent, la qualité de la réponse immunitaire [14].

#### **I.4.1.2 Anticorps comme réactif**

Les anticorps sont devenus des outils indispensables dans les activités de recherche, de diagnostic et de thérapie. En plus de leur capacité à reconnaître très précisément une molécule, de s'y fixer avec une affinité variable et de façon réversible, les anticorps peuvent distinguer des différences subtiles entre les molécules d'antigène. Ces propriétés en font de remarquables réactifs d'utilisation aisée [15].

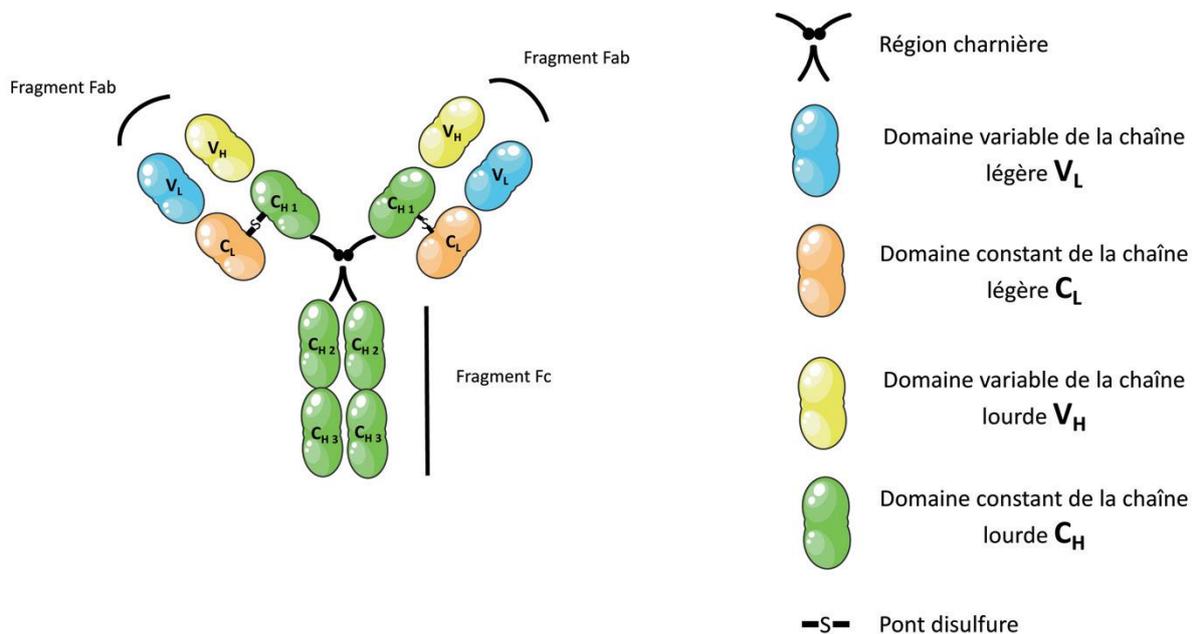
##### **I.4.1.2.1 Rappel sur les anticorps**

Les immunoglobulines (Ig), ou anticorps (Ac), sont les effecteurs de l'immunité humorale spécifique d'antigène (Ag). Les Ig sont synthétisées par les plasmocytes, issus de la différenciation des lymphocytes B (LB) activés par l'Ag.

Les Ig existent sous deux formes principales : soluble dans les liquides biologiques, et membranaire à la surface des LB, constituant le récepteur spécifique à l'Ag des LB (BCR, B Cell Receptor).

Les Ig sont des hétérodimères glycoprotéiques, constitués par l'association de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères, identiques deux à deux. Il existe 5 types de chaînes lourdes, nommées  $\mu$ ,  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$  ou  $\epsilon$ , définissant la classe ou isotype de l'Ig, respectivement M, G, A, D ou E. Il existe deux types de chaînes légères : les chaînes légères  $\kappa$  représentent environ 60 % des chaînes légères des Ig chez l'homme et les chaînes légères  $\lambda$  représentent les 40 % restants [16].

Chacune des chaînes est organisée en domaines d'une centaine d'acides aminés, deux pour les chaînes légères (VL et CL) et quatre pour les chaînes lourdes (VH, CH1, CH2, et CH3). Les domaines VL et VH sont les domaines variables, ils forment le fragment Fab qui fixe l'antigène (Figure 4). Chaque domaine variable possède trois boucles hypervariables appelées *complementary determining regions* (CDR) qui se caractérisent par une extrême variabilité en acides aminés. Les CDRs constituent le site de spécificité antigénique. Les domaines CL, CH1, CH2 et CH3 sont appelés domaines constants. Chaque domaine comporte un pont disulfure (intra-brin). La chaîne légère est liée à la chaîne lourde par un pont disulfure localisé aux extrémités C-terminales des domaines CL et CH1. Les chaînes lourdes sont liées entre elles par des ponts disulfures localisés au niveau de leur région charnière (H). Les domaines constants CH2 forment le fragment Fc, chez la plupart des mammifères, ce fragment CH2 est glycosylé [17].



**FIGURE 4 : Structure schématique d'une immunoglobuline.**

#### **I.4.1.2.2 Production des anticorps polyclonaux**

Les premiers types d'anticorps qui ont été produits en tant qu'outils sont les anticorps polyclonaux. La méthode la plus simple pour obtenir des anticorps spécifiques d'un antigène consiste à injecter cet antigène à un animal à plusieurs reprises, puis à recueillir le sérum contenant les anticorps après prélèvement sanguin. Les anticorps spécifiques de l'antigène présents dans cet immunosérum peuvent être ensuite purifiés en fonction de leur isotype et/ou de leur spécificité antigénique [15].

#### **I.4.1.2.3 Production Des anticorps monoclonaux**

La production d'anticorps monoclonaux a été obtenue pour la première fois par Milstein et Köhler dans les années 1975. Elle résulte de la fusion de lymphocytes B de souris immunisées et de cellules myéломateuses murines conduisant à la génération d'hybrides cellulaires produisant un anticorps monoclonal spécifique de l'immunogène (en l'occurrence globules rouges de mouton) [1]. Le caractère génial de cette invention tient au fait que les cellules hybrides héritent des propriétés des deux partenaires de la fusion à savoir l'immunoglobuline spécifique de l'immunogène et l'immortalité du clone myéломateux. Ces hybridomes peuvent être gardés indéfiniment bien que se posent parfois quelques problèmes de stabilité qui font que certains clones ne produisent plus d'anticorps ou cessent de pousser. Néanmoins, il est toujours possible de recourir à des techniques de biologie moléculaire à partir des ADN complémentaires (ADNc) codant les régions variables des chaînes lourdes et légères de l'hybridome, afin de produire les anticorps monoclonaux par génie génétique [17][18][19].

#### **I.4.1.2.4 Conservation des anticorps**

Pour un archivage de longue durée, les solutions d'anticorps peuvent être congelées à  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , préférentiellement en présence de 10 à 25 % de glycérol, sous forme d'aliquotes afin d'éviter de répéter des cycles de congélation-décongélation. Après décongélation, l'activité des anticorps doit être contrôlée de nouveau. Les solutions diluées doivent être conservées dans des récipients présentant de faibles capacités d'adsorption des protéines [15].

#### **I.4.1.2.5 Intérêts respectifs des anticorps polyclonaux et monoclonaux**

Les anticorps polyclonaux sont constitués d'un mélange de plusieurs espèces d'anticorps différents dirigés contre plusieurs épitopes d'un même antigène. Une même molécule d'antigène peut fixer en même temps plusieurs anticorps différents, chacun sur son épitope respectif. Cette propriété confère aux anticorps polyclonaux une avidité beaucoup plus forte vis-à-vis de leur antigène.

Les anticorps monoclonaux ont une spécificité épitopique élevée, leur permettant de limiter les réactions croisées.

La détection de molécules faiblement exprimées est améliorée par la variété des spécificités des anticorps polyclonaux, tandis qu'elle est limitée par la monospécificité épitopique des anticorps monoclonaux [15].

### **I.4.1.3 Thermodynamique de la réaction antigènes anticorps**

Les caractéristiques physiques des réactions antigène–anticorps sont très importantes à connaître pour le développement de techniques qui les utilisent car elles conditionnent de nombreux paramètres de l'expérimentation souhaitée.

Épitopes et paratopes engagent des interactions non covalentes, instables et réversibles, de type liaisons de van der Waals, liaisons hydrophiles/hydrophobes, liaisons électrostatiques et liaisons hydrogène. La somme de ces liaisons définit la force d'interaction entre l'antigène et son récepteur.

L'avidité représente la résultante des différentes forces d'interaction engagées entre les anticorps et les épitopes. La force d'interaction globale d'un anticorps avec sa cible dépend alors du nombre de paratopes qu'il peut engager. Ainsi, une IgM, pentamérique, qui peut engager ses dix paratopes lors de l'interaction avec un antigène, a une force d'interaction (avidité) plus importante que celle d'une IgG qui ne peut engager que deux paratopes identiques.

L'affinité d'un complexe épitope/paratope est défini par la concentration molaire permettant de saturer 50 % des récepteurs présents. On considère qu'une faible affinité est de l'ordre de  $10^{-4}$  mM et une forte affinité de l'ordre de  $10^{-9}$  mM. Cette affinité dépend de la complémentarité entre l'épitope et le paratope.

La valence antigénique correspond au nombre de molécules d'un épitope donné pouvant être reconnues simultanément par des anticorps qui lui sont spécifiques.

La spécificité et l'affinité des anticorps pour leur antigène sont les deux propriétés essentielles qui en font d'excellents outils pour leur utilisation en tant que réactifs *in vitro* [15].

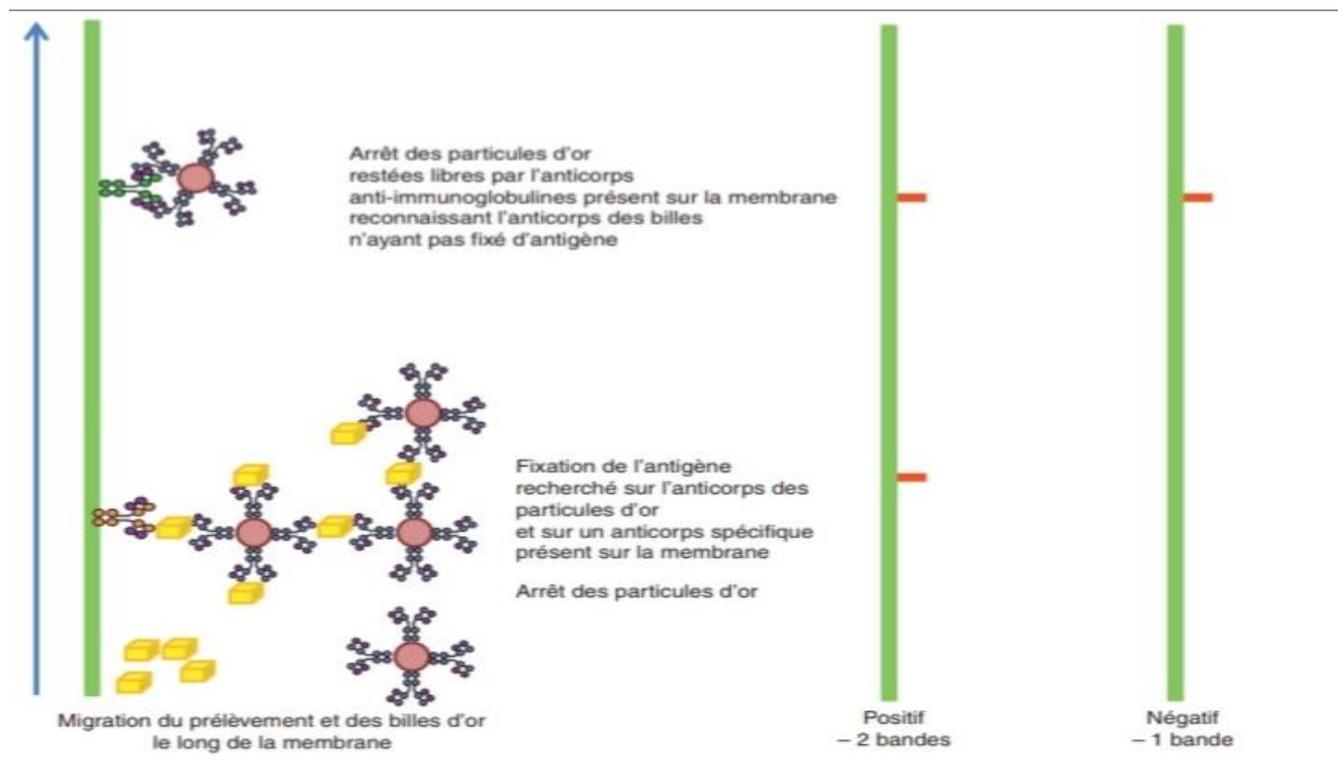
## **I.4.2 Méthode immunochromatographique**

### **I.4.2.1 Principe et fonctionnement**

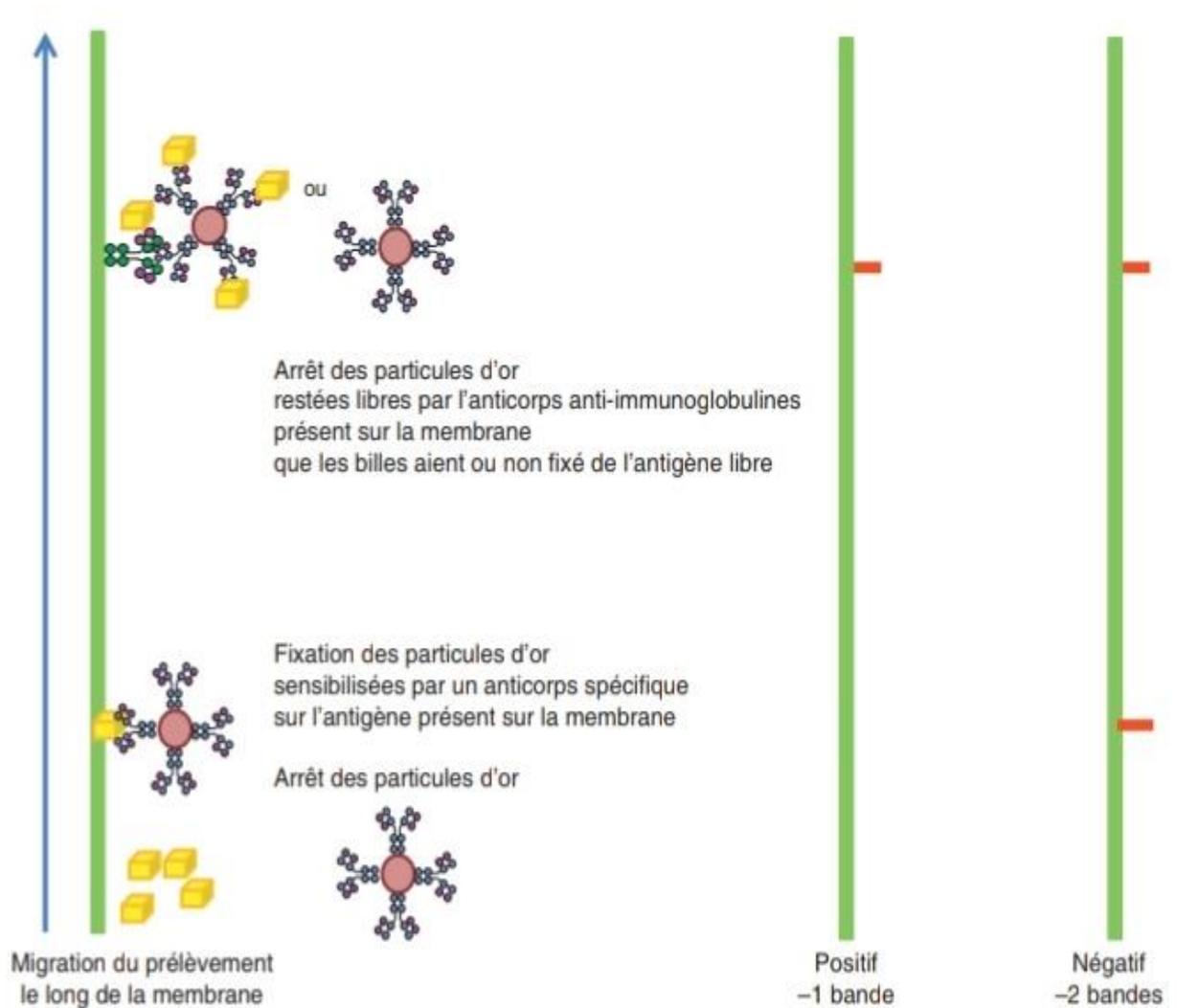
La technique d'immunochromatographie consiste en la migration, sur un support, de nano- ou microparticules mises en contact avec des antigènes et/ou des anticorps. La première méthode développée par Singer et Plotz en 1956 est fondée sur un principe de chromatographie d'affinité de type ligand–récepteur correspondant à la réaction antigène. Les complexes immuns sont immobilisés sur une membrane, d'où le nom d'immunochromatographie sur membrane (ICM). Cette méthode a donné lieu au développement de tests de diagnostic rapide (TDR) qui permettent la recherche de divers antigènes ou d'anticorps de type IgG et/ou IgM [20].

Dans les applications visant à la détection d'antigènes, le principe général consiste à mettre en contact une solution biologique et des billes portant à leur surface des anticorps spécifiques de la molécule recherchée. Ce mélange migre sur un support possédant à sa surface des anticorps spécifiques de la même molécule d'intérêt. Si la molécule cible est présente dans l'échantillon

biologique de départ, elle est prise en sandwich au cours de la migration entre les deux anticorps et les billes s'immobilisent sur le support. Lorsque suffisamment de billes sont immobilisées, une coloration est détectable et indique la présence de la molécule d'intérêt. Deux types d'anticorps de capture sont déposés en deux points pour former une ligne de capture (fixation des complexes immuns) et une ligne de contrôle (fixation des billes seules reconnues par un anticorps anti-immunoglobulines) (Figure5). Une alternative à cette technique sandwich, pour la détection d'antigènes, est la méthode par compétition. Dans ce cas, les billes recouvertes d'anticorps ayant fixé l'antigène recherché ne peuvent être arrêtées par de l'antigène préalablement fixé sur la membrane et sont seulement reconnues par des anticorps anti-immunoglobulines. Les billes n'ayant pas fixé l'antigène sont arrêtées par l'antigène de la membrane et par les anticorps anti-immunoglobulines. L'immunochromatographie peut être utilisée de la même façon pour rechercher des anticorps dans l'échantillon testé, avec des billes recouvertes d'antigène et des anticorps anti immunoglobulines sur la membrane (Figure6). Le système peut être vertical ou horizontal pour des immunochromatographies à migration verticale ou latérale.



**FIGURE 5 : Principe de l'immunochromatographie par sandwich.**



**FIGURE 6 : Principe de l'immunochromatographie par compétition.**

De façon plus précise, le support sur lequel est fixée la membrane comporte à chaque extrémité du papier absorbant. L'échantillon dans lequel est recherché l'antigène ou l'anticorps est déposé dans un réservoir contenant les microparticules colorées (latex ou or colloïdal) recouvertes respectivement par un anticorps ou un antigène. Le contenu du réservoir est déversé sur la membrane, et le papier absorbant placé à l'autre extrémité du dispositif active la migration du liquide contenant les billes, réalisant ainsi la chromatographie. La membrane de migration peut être de type Nylon ou nitrocellulose avec une porosité comprise entre 0,5 et 10  $\mu\text{m}$ . Le réservoir peut être en fibre de verre ou en cellulose et doit être saturé par une solution de saccharose ou de protéines.

### **I.4.3.2 Caractéristique interne.**

Les tests basés sur l'immunochromatographie sur membranes sont des tests de diagnostics rapides unitaires qualitatifs ou semi quantitatifs [20]. Ces tests présentent généralement une spécificité élevée, mais une sensibilité modeste par rapport aux techniques moléculaires [21]. Le résultat est très rapide (quelques minutes), et ne nécessite en général que très peu de techniques pré-analytiques. La confirmation par un dosage ou une titration parfois est nécessaire [20]. Ce sont donc surtout des tests de dépistages, et leur négativité ne permet pas d'exclure le diagnostic [21].

### **I.4.2.3 Interprétation**

- Méthode par sandwich.

L'apparition colorée de la zone de contrôle doit être systématique, elle traduit et affirme la bonne migration du flux. En présence de l'antigène à détecter, une deuxième zone se colore, le test est alors positif (Figure 5) [22].

- Méthode par compétition.

Dans ce cas, un test positif se traduit par la formation d'une seule bande de billes d'or.

Un test négatif se traduit par la formation de deux bandes de billes d'or (Figure 6).

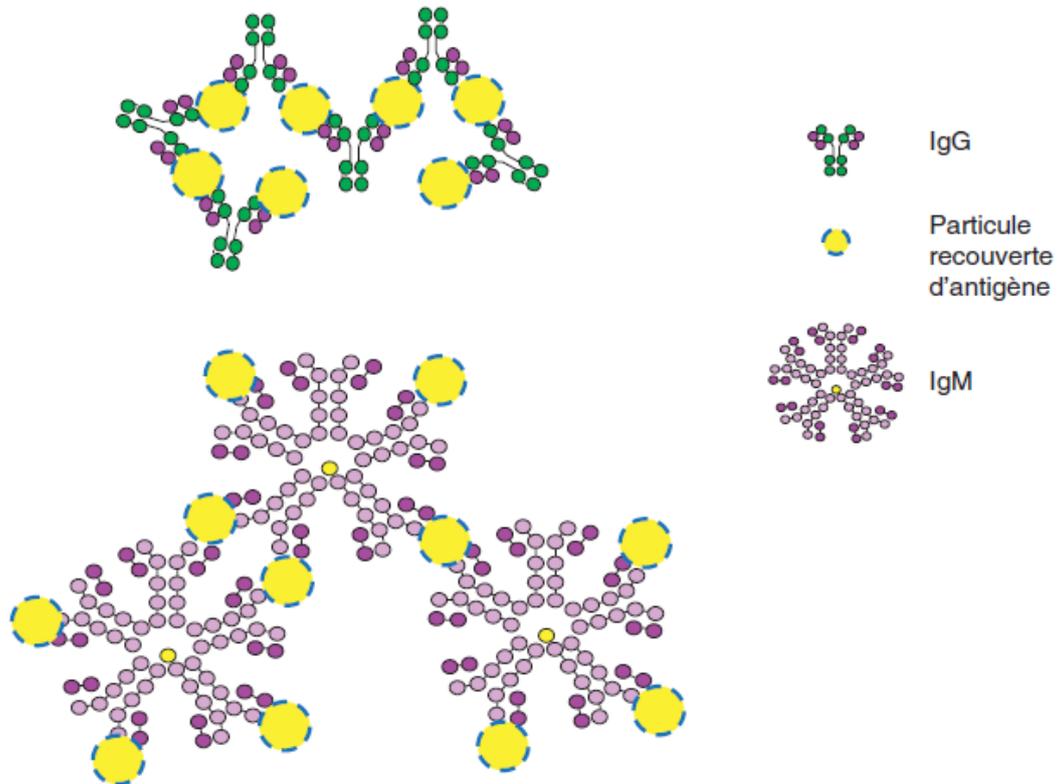
## **I.4.3 Méthode d'agglutination**

### **I.4.3.1 principe et fonctionnement**

Les réactions d'agglutination mettent en jeu le plus souvent un antigène présent à la surface d'une particule d'une taille comprise entre 0,1 et 10 microns (hématies, leucocytes, plaquettes, spermatozoïdes, micro-organismes, billes de latex ou de sépharose) et des anticorps qui en sont spécifiques. La suspension de particules, d'abord homogène, devient le siège d'agrégats visibles à l'œil nu ou au faible grossissement d'un microscope ordinaire (objectif  $\times 10$ ). C'est un phénomène d'association antigène-anticorps regroupant les particules en amas [FIGURE 7].

Les paramètres de la réaction d'agglutination sont critiques selon que les anticorps sont directement agglutinants ou non agglutinants. La nature des antigènes (nombre de sites antigéniques, localisation) et d'autres facteurs expérimentaux peuvent aussi influencer, tels que la température, le pH et la force ionique. Les différentes modalités consistent à développer une agglutination directe ou indirecte. L'agglutination directe résulte de l'association entre un anticorps agglutinant, d'isotype IgG ou IgM, et un antigène à la surface de la particule. Elle se développe en tube, en microplaque, sur lame ou sur une plaque cartonnée plastifiée. Elle peut être qualitative ou quantitative, si une titration est effectuée, le titre étant l'inverse de la dernière dilution de sérum à laquelle s'observe l'agglutination. On peut faciliter l'agglutination

entre un antigène particulaire et un anticorps non agglutinant en diminuant la charge électrique, en augmentant la constante diélectrique, ou en augmentant la force ionique du milieu. Ceci peut être obtenu en ajoutant des macromolécules (albumine bovine, dextran, Ficoll®) au milieu réactionnel, pour favoriser les liaisons des anticorps aux particules [20].



**FIGURE 7: Exemple d'agglutination directe avec des anticorps agglutinants d'isotype IgG (en haut) ou IgM (en bas) reconnaissant un antigène (en bleu) présent à la surface des particules agglutinées.**

**[Dans l'agglutination passive, cet antigène n'appartient pas à la particule (en jaune) et y a été fixé pour utiliser la particule comme support.]**

#### **I.4.3.2 caractéristiques internes**

La spécificité des réactions d'agglutination dépend des qualités respectives des anticorps et des antigènes mis en jeu [20]. Alors que, par rapport à la méthode de référence qui est la culture, la sensibilité de l'agglutination reste médiocre. Différentes études ont mis en évidence les faiblesses de cette réaction et ont conclu qu'elles ne peuvent pas remplacer la culture. Ces tests sont donc de moins en moins utilisés. Enfin, les réactifs liquides sont instables dans le temps [23].

### I.4.3.3 Interprétation

La lecture de la réaction est souvent difficile. La concentration en antigène trop élevée peut saturer les sites des anticorps du réactif et ainsi empêcher l'agglutination, autrement nommée phénomène de zone imposant une dilution. Souvent aussi, il n'y a pas de dosage quantitatif, mais un titrage par dilution [20] [FIGURE 8].

Résultat positif	Résultat négatif	Résultat douteux
un agglutinât rouge apparaît au sein d'une suspension verte. Eclaircissement du milieu réactionnel.	La solution reste homogène relativement marron et verte. Aucun éclaircissement.	Un pseudo agglutinât marron est visible, sans autre coloration de la « suspension ».
		

**FIGURE 8 : Interprétation des résultats d'une agglutination.**

### I.4.4 Méthode immunoenzymatique ELISA

#### I.4.4.1 Principe et fonctionnement

La technique d'ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) a été mise au point au début des années 1970 par deux chercheurs de l'université de Stockholm, Eva Engvall et Peter Perlmann. Comme son nom l'indique, la technique ELISA c'est une technique immunoenzymatique, qui se déroule sur un support solide et révélée par une réaction enzymatique en phase liquide. La mesure de la réaction colorée finale se fait à l'aide d'un spectrophotomètre. Un fluorochrome est utilisé pour révéler la réaction dans la variante FLISA (Fluorescence-Linked ImmunoSorbent Assay) [24].

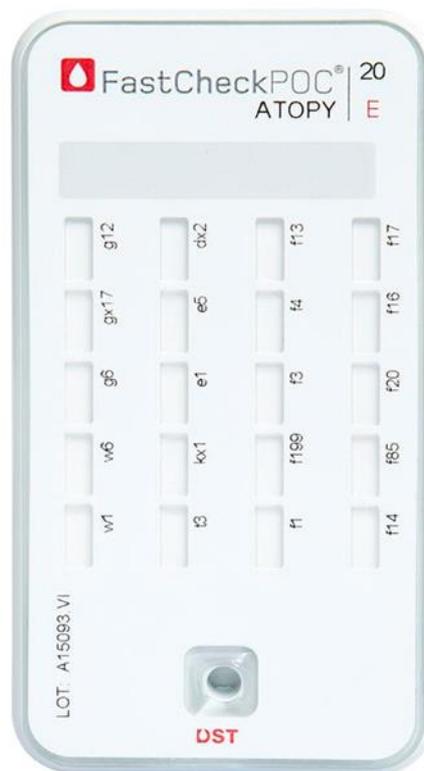
Exemple :

Le test rapide FastCheckPOC® 20 utilise la technique ELISA, pour dépister les allergies lors d'une consultation.

#### I.4.4.2 Caractéristique interne

L'ELISA est une technique sensible, adaptée à la réalisation de grandes séries de dosage, et offre la possibilité d'une automatisation totale. Elle peut être réalisée à visée qualitative ou

quantitative selon que l'on utilise ou non une courbe d'étalonnage (ou gamme étalon) [FIGURE 9] [24].



**FIGURE 9 : Test rapide utilisant la technique ELISA.**

# **CHAPITRE II**

**« Présentation générale de la COVID-19 »**

## II.1 COVID-19

### II.1.1 SARS-CoV-2

#### II.1.1.1 Classification et phylogénie

Les coronavirus appartiennent à la famille des Coronaviridae, qui comprend deux sous-familles, les Coronavirinae et les Torovirinae. Les Coronavirinae sont divisés en quatre genres, appelés Alpha-, Beta-, Gamma et Deltacoronavirus. Le genre Betacoronavirus est lui-même subdivisé en quatre clades (A, B, C et D). Les coronavirus humains (HCoV) répertoriés en 2020 appartiennent aux Alpha- et aux Betacoronavirus [25] [26].

Sept coronavirus étaient capables d'infecter l'homme avant l'émergence du SARS-CoV2 [27]. Deux alphacoronavirus (HCoV-NL63, HCoV-229E) et quatre betacoronavirus (HCoV-OC43, HCoV-HKUI, SARS-CoV-1, MERS-CoV) [28]. Quatre sont ubiquitaires et responsables d'infections respiratoires hautes et basses (HCoV), peu sévères en général chez les individus immunocompétents. Deux autres, très pathogènes, ont émergé plus récemment : en 2003, le SARS-CoV Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus associé à un syndrome respiratoire aigu sévère et, en 2012, le Middle East Respiratory Syndrome-Related Coronavirus (MERS-CoV), provoquant le syndrome respiratoire du Moyen-Orient [27].

Fin 2019, un nouveau coronavirus, le SARS-CoV- 2, responsable de la Covid-19, est apparu en Chine, à Wuhan, puis s'est répandu dans le monde entier. Il s'agit d'un Betacoronavirus (clade B), comme le SARS-CoV [29].

Les virus de cette famille sont d'origine zoonotique. Le SARS-CoV-2 appartient aux virus apparentés au SARS-CoV dont le réservoir est la chauve-souris. Si le génome du SARS-CoV-2 présente 79 % d'homologie avec le SARS-CoV-1 et 52 % d'homologie avec le MERS-CoV [30,31], les virus les plus proches phylogénétiquement sont des coronavirus de la chauve-souris, notamment le RaTG13-CoV (96 % d'homologie) [32]. Cependant, les lieux de vie des chauve-souris étant éloignés des communautés humaines, le passage inter-espèce a probablement nécessité un hôte intermédiaire, comme l'ont été la civette palmée pour le SARS-CoV-1 ou le dromadaire pour MERS-CoV [33,34]. Dans le cas du SARS-CoV-2, le pangolin, mammifère sauvage notamment consommé en Chine et dont la niche écologique recouvre celle des chauves-souris, pourrait avoir joué ce rôle, comme le suggère l'isolement d'une souche de coronavirus du pangolin très proche phylogénétiquement (92 % d'homologie) [34,35]. Par ailleurs, par rapport au SARS-CoV-1 et aux coronavirus de la chauve-souris, le SARS-CoV-2 présente une modification importante du domaine liant de récepteur situé sur la protéine S et responsable d'un gain d'affinité pour son récepteur ACE2 [32,36,37]. Ce domaine de liaison est retrouvé quasiment à l'identique (seulement un acide-aminé différent) chez un coronavirus du pangolin [35,38], accréditant l'idée que l'évolution du virus au contact du pangolin pourrait avoir favorisé le passage à l'homme, possiblement via la translocation du domaine de liaison [39]. Ce saut inter-espèce se serait produit en Chine, possiblement au marché de Huanan, puisque la majorité des premiers cas de COVID-19 y ont été exposés fin 2019 [40] . Néanmoins, l'analyse phylogénétique de virus isolés en

Chine révèle qu'au moins deux souches différentes de SARS-CoV-2 étaient apparues plusieurs mois avant les premiers cas décrits [41,46].

**TABLEAU 1 : Classification des sept coronavirus humains et année de leur identification.**

Alphacoronavirus	Betacoronavirus	
HCoV-229E (1966)	Clade A	HCoV-OC43 (1967)
HCoV-NL63 (2004)		HCoV-HKU1 (2005)
	Clade B	SARS-CoV-1 (2003)
		SARS-CoV-2 (2019)
	Clade C	MERS-CoV (2012)

*(HCoV: coronavirus humains ; SARS : Severe Acute Respiratory Syndrome ; MERS : Middle East Respiratory Syndrome.)*

**TABLEAU 2 : Classification du SARS-CoV-2.**

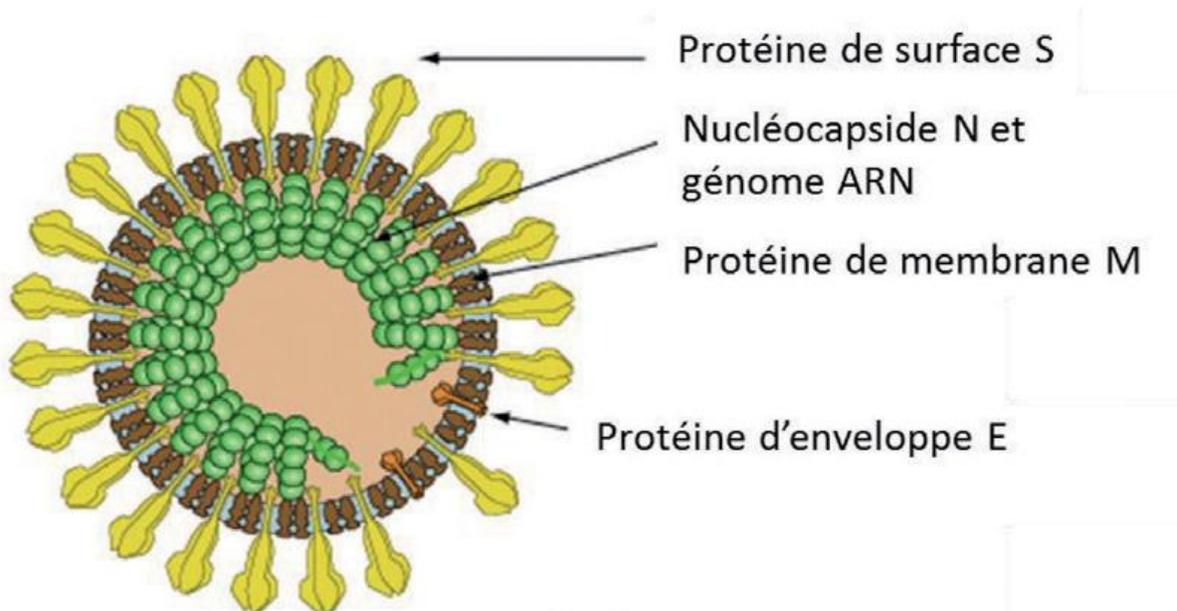
<b>Famille</b>	<i>Coronaviridae</i>
<b>Sous-famille</b>	<i>Coronavirinae</i>
<b>Genre</b>	<i>Betacoronavirus</i>
<b>Clade</b>	<i>Clade B</i>

### II.1.1.2 Structure et génomique

Les coronavirus sont des virus enveloppés, plutôt sphériques, d'un diamètre compris entre 80 et 200 nm. Les protéines S (spike) forment une large couronne à leur surface, d'où le préfixe latin corona [42].

La protéine S est la protéine qui lie le répéteur cellulaire du SARS-CoV-2 (ACE2) et permet l'entrée dans la cellule. Elle est formée de deux sous-unités : S1 qui contient le domaine de liaison au récepteur cellulaire, et S2 qui est essentiel pour la fusion du virus à la membrane cellulaire.

La nucléocapside, hélicoïdale, formée de la protéine de capsid (N) complexée à l'ARN viral, est protégée par une enveloppe phospholipidique dans laquelle sont enchâssées les glycoprotéines de surface (S, M et E)(Figure10) [43].



**FIGURE 10 : Structure du SARS-CoV-2.**

Le SARS-CoV-2 est un virus à ARN monocaténaire positivement polarisé de 29,9 kb [44].

Le génome des coronavirus est de grande taille, environ 30 kb, il comprend deux régions non codantes en 5' et en 3'. La partie codante est divisée en plusieurs parties. Les deux premiers tiers du génome sont constitués de deux grandes régions chevauchantes, Open Reading Frame (ORF) 1a et ORF1b, codant le complexe de réplication- transcription, dont le gène RNA-dépendant RNA Polymerase (RdRp) qui code l'ARN polymérase ARN dépendante [45].

Le tiers restant du génome code essentiellement pour les protéines de structures du virus dont quatre glycoprotéines membranaires - la protéine Spike (S), et les protéines de membrane (M) et d'enveloppe (E) ainsi que la protéine de capsid (N) (Figure 11) [46].



**FIGURE 11 : Organisation génomique du SARS-CoV-2.**

**RdRp** : gène codant l'ARN polymérase ARN-dépendante ; **S, E, M, N** : gènes codant les protéines de structure (**S** [surface], **E** [enveloppe], **M** [membrane], **N** [nucléocapside]).

Les coronavirus présentent une grande diversité génétique liée à la plasticité de leur génome. Ainsi, au cours de leur évolution, ils ont pu acquérir un certain nombre de gènes codant des protéines leur permettant d'enrichir leur potentiel d'adaptation.

Cette diversité génétique est liée à plusieurs facteurs : apparition et sélection de mutations lors de la réplication du génome ARN, insertions ou délétions ayant pour conséquence une modification des régions codantes, recombinaisons facilitées par la nature discontinue de la transcription du génome, présence de quasi-espèces. La région du génome qui subit la plus forte sélection est le gène codant la protéine de surface **S** qui s'attache au récepteur cellulaire et qui est l'épitope des anticorps neutralisants [47,48].

### **II.1.1.3 Infection cellulaire et cycle de réplication**

Le cycle de multiplication de Sars-CoV-2 dans la cellule comporte les étapes d'attachement, de pénétration et décapsidation puis les synthèses des macromolécules (acides nucléiques et protéines [49]).

La protéine **S** du SARS-CoV-2 utilise le récepteur cellulaire ACE2- une métalloprotéase dont la fonction première est la dégradation de l'angiotensine II en angiotensine 1-7 - pour rentrer dans la cellule hôte [32,37]. La sous-unité S1 permet la liaison du virus au récepteur de la cellule hôte et la sous-unité S2 assure la fusion de l'enveloppe virale et la membrane cellulaire. Le clivage de la protéine **S** par les protéases de la cellule hôte active la fusion au niveau de deux sites en tandem, heptad repeat 1 (HR1) [50] et HR2 [51]. De façon intéressante, en dehors d'ACE2, le SARS-CoV-2 pourrait également utiliser d'autres récepteurs cellulaires de la protéine **S** pour infecter les cellules n'exprimant pas ACE2, ainsi que démontrée sur des lymphocytes T in vitro [52].

Après la fusion et le largage de la nucléocapside dans le cytosol de la cellule hôte, la machinerie cellulaire traduit le gène de la réplicase en deux polyprotéines (pp1a et pp1ab) clivées en nombreuses protéines indispensables au cycle viral (notamment deux protéases virales et une ARN-polymérase ARN-dépendant) s'assemblant en un large complexe de transcription et de réplication. [53,33]. Ce complexe permet d'une part de reproduire l'ARN viral et d'autre part, par le biais de la formation de petits brins d'ARN anti-sens appelés ARN sous-génomiques, la production de protéines de structure des nouveaux virions. Finalement

les brins d'ARN synthétisés sont combinés avec la protéine N pour former la nucléocapside et l'assemblage avec les glycoprotéines d'enveloppe permet le bourgeonnement de nouvelles particules virales [33].

#### **II.1.1.4 Rôle paradoxal de l'ACE2**

L'ACE2 étant le principal récepteur cellulaire du SARS-CoV-2, il a été suggéré qu'une forte expression d'ACE2 conduisait à une susceptibilité accrue à l'infection. Ceci pourrait expliquer que les patients diabétiques ou atteints de cancer, qui expriment plus fortement ACE2, soient à risque de formes graves [54]. Paradoxalement, si l'expression tissulaire d'ACE2 permet la pénétration du virus dans la cellule, la forme soluble d'ACE2 pourrait être un facteur protecteur du COVID-19. L'activité d'ACE2 circulante est effectivement faible chez les patients en surpoids ou hypertendus alors qu'elle est plus forte chez les enfants et qu'elle est corrélée positivement à l'expression d'œstrogènes [55]. Ceci explique, pour certains auteurs, la relative protection des enfants par rapport aux adultes et des femmes par rapport aux hommes dans la COVID-19 [56].

#### **II.1.1.5 Voies de transmissions**

Actuellement, il est admis que la transmission interhumaine est la principale voie de transmission [57], Le SARS-CoV-2 se transmet essentiellement par l'émission de gouttelettes respiratoires. Ces gouttelettes chargées de particules virales pourraient infecter un sujet susceptible soit par contact direct avec une muqueuse (transmission directe) soit par contact avec une surface infectée par les muqueuses nasales, buccales ou conjonctivales (transmission indirecte). Elles peuvent être projetées à plusieurs mètres de distance mais ne persistent pas dans l'air. Le virus peut survivre plusieurs jours sur des surfaces inertes [58].

#### **II.1.2 Présentation clinique**

L'infection par le SARS-CoV-2 semble évoluer en trois phases. La phase d'incubation est suivie d'une phase symptomatique qui apparaît dans un délai médian de 5 jours après le contage et qui concernerait 70 % des patients infectés. Une phase d'aggravation des symptômes respiratoires est possible et environ 3,4 % des patients développeraient un SDRA (syndrome de détresse respiratoire aiguë) dans un délai médian de 8 jours après les premiers symptômes [59,60]. La mortalité liée au SDRA est élevée, autour de 50 % [61].

##### **II.1.2.1 Symptomatologie**

La symptomatologie est celle d'une infection respiratoire à type de pneumonie de gravité variable. Les symptômes les plus courants sont les suivants : fièvre, toux sèche, fatigue. D'autres symptômes moins courants peuvent toucher certains patients : perte du goût et de l'odorat, congestion nasale, Conjonctivite (yeux rouges), Mal de gorge, maux de tête, douleurs musculaires ou articulaires, Différents types d'éruption cutanée, Nausées ou vomissements, diarrhée, frissons ou vertiges. Les symptômes de la forme grave de COVID-19 sont les suivants : essoufflement, perte d'appétit, état confusionnel, douleurs ou sensation d'oppression persistante dans la poitrine, température élevée (supérieure à 38° C).

D'autres symptômes sont moins courants : irritabilité, état confusionnel, Altération de la conscience (parfois associée à des crises), Troubles anxieux, dépression, troubles du sommeil [62].

### **II.1.2.2 Complication**

Les détresses respiratoires (SDRA) représentent certes la majorité des complications, mais celles-ci sont multiples. Les plus fréquentes sont constituées par les arythmies, les cardiomyopathies, des tableaux de sepsis indépendamment de toute infection bactérienne. La maladie thromboembolique est aussi une complication particulièrement fréquente, justifiant des recommandations spécifiques d'anticoagulation préventive [63]. Des thromboses veineuses profondes, dont des thromboses sur cathéter, et surtout des embolies pulmonaires ont été rapportées. En réanimation, les embolies pulmonaires se sont révélées plus fréquentes dans les SDRA de la Covid-19 que dans les SDRA d'autres étiologies.

Des complications neurologiques, à type de myélite para-infectieuse, de syndrome de Guillain-Barré, d'encéphalites aigües et d'encéphalopathies ont été décrites [64]. Des néphropathies ainsi que des défaillances multiviscérales ont été aussi observés [65].

### **II.1.2.3 Gravité et facteur de risque de gravité**

On estime que les infections asymptomatiques, ou avec des signes cliniques modérés sont de loin les plus fréquentes (80 %). Environ 15 % des patients ont une forme clinique qui justifie une hospitalisation et chez un peu moins de 5 % des patients, une forme « critique » (détresse respiratoire, choc, défaillance multiviscérale) survient, qui justifie dans certains cas une admission en réanimation [66]. Une partie des patients admis en réanimation doit être intubée pour conserver une chance de guérison. Comme pour la grippe, les formes graves peuvent survenir chez des personnes jeunes et sans comorbidité, mais ceci est rare. Des facteurs de risque des formes graves ont été identifiés, tels que l'âge et les comorbidités. Alors que l'âge médian des patients hospitalisés se situe entre 50 et 55 ans, 80 % des décès sont observés chez les plus de 65 ans. Les comorbidités sont les pathologies cardiovasculaires et leurs facteurs de risque (obésité, hypertension artérielle, diabète, tabac), les maladies pulmonaires et rénales chroniques, et les néoplasies. L'effet cumulatif des comorbidités sur le risque léthal est très probable, comme l'illustre une série de cas en Italie, dans laquelle le nombre moyen de comorbidités est compris entre deux et trois [67].

### **II.1.3 Diagnostic**

La démarche diagnostique repose sur un faisceau d'arguments basés sur :

- Des critères épidémiologiques qu'il importe de rechercher systématiquement, un contact direct avec un cas confirmé ou suspecte de Covid-19.
- Des critères cliniques (décrites ci-dessus).
- Des critères biologiques se traduisant par une leucopénie et / ou une lymphopénie, une CRP élevé, une VS accélérée. Élévation de LDH et des D-Dimères.

A ce faisceau d'arguments s'associe un critère radiologique de forte présomption basé sur les images typiques du scanner thoracique. L'absence d'anomalies parenchymateuses, n'exclut pas une infection COVID-19 dans les 3 premiers jours d'apparition des symptômes.

La certitude du diagnostic est apportée par la positivité :

- De la RT-PCR qui reste l'examen de référence.
- Des tests sérologiques (anticorps). Validés à partir du 7 jours du début des symptômes [68].

### **II.1.3.1 Imagerie**

La tomодensitométrie (TDM) sans injection en coupes fines montre : Une image en verre dépoli, bilatérales, prédominant en périphérie dans les lobes inférieurs avec possible pleurésie et lymphadénopathies [69].

### **II.1.3.2 Technique de biologie moléculaire RT-PCR**

#### **II.1.3.2.1 Prélèvement**

Le prélèvement effectué pour réaliser la RT-PCR, est le prélèvement nasopharyngé [70]. D'autres modalités existent, comme l'aspiration nasale, plus adaptée chez les enfants et qui favorise en général une plus grande sécrétion de mucus. En seconde intention, des prélèvements plus profonds peuvent être réalisés, par exemple avec le liquide de lavage broncho-alvéolaire ou via l'aspiration bronchique, si le prélèvement nasopharyngé est négatif et qu'il persiste une forte suspicion clinique [71].

L'utilisation des tests virologiques reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) sur prélèvement salivaire [72], facilitent les prélèvements, réduisent les risques de contamination du personnel soignant et sont moins désagréables pour les patients. Néanmoins le prélèvement salivaire reste un peu moins sensible que celui effectué par voie nasopharyngée.

Toutefois, étant donné sa meilleure acceptabilité, son utilisation est destinée de préférence aux personnes symptomatiques chez lesquelles le prélèvement nasopharyngé est difficile, voire impossible. En revanche, elle ne les recommande pas pour les sujets asymptomatiques, chez qui ces tests sont très peu performants [73].

#### **II.1.3.2.2 Principe et caractéristique**

En plus de la présentation clinique, des marqueurs biologiques et de l'imagerie qui contribuent également au diagnostic du COVID, la confirmation de cette maladie virale est faite par l'identification de l'ARN du SARS-CoV-2 dans des échantillons biologiques [74].

La polymerase chain reaction (PCR) est une technique de biologie moléculaire permettant de dupliquer une séquence d'acide désoxyribonucléique (ADN) connue à partir d'une faible quantité d'échantillons. Cette amplification permet de disposer d'une quantité suffisante de

matériel génétique pour identifier un agent biologique. Pour détecter le Sars-CoV-2, qui est un virus à acide ribonucléique (ARN), il faut obtenir la transformation de l'ARN en ADN grâce à une enzyme : la transcriptase inverse. L'ADN est donc amplifié par PCR, c'est la reverse transcription polymerase chain reaction dite RT-PCR [75].

RT-PCR spécifique du SARS-CoV-2 ciblent différents gènes : le gène RdRp, le gène E, mais aussi les gènes N, S ou de l'ORF1 du SARS-CoV-2 [76].

La RT-PCR s'avère positive chez des individus infectés symptomatiques ou asymptomatiques. Chez la plupart des patients symptomatiques, elle se positive dès le premier jour des symptômes, un pic est observé pendant la première semaine et la détection est possible jusqu'à deux à trois semaines après le début des signes cliniques (chez des patients présentant des formes sévères, l'ARN viral a pu être détecté encore après ce délai). Néanmoins, un test positif ne préjuge pas de la contagiosité du patient, mais seulement de la présence du génome du virus [77].

La RT-PCR est donc une technique présentant une très bonne sensibilité et spécificité, ce qui en fait la méthode de référence pour la recherche directe du SARS-CoV-2. Cependant, elle peut se révéler négative chez un patient pourtant infecté pour plusieurs raisons : qualité du prélèvement, site anatomique et délai de réalisation par rapport aux symptômes [76,73].

### **II.1.3.3 RT-LAMP**

La RT-LAMP est un test d'amplification iso thermique sans extraction d'ARN, utilisable sur prélèvements nasopharyngés ou salivaires, mais dont les performances analytiques sont inférieures à celles de la RT-PCR. Elle est utilisable sur systèmes intégrés, uniquement chez les sujets symptomatiques [78].

### **II.1.3.4 Tests de diagnostic rapide antigénique (TDR-Ag)**

Les tests antigéniques détectent les protéines spécifiques du Sars-CoV-2, la cible la plus souvent détectée est la nucléocapside du virus, cette protéine étant privilégiée en raison de son abondance relative [79]. Ces tests peuvent être réalisés sur des prélèvements nasopharyngés, des prélèvements des voies respiratoires basses, et le résultat est disponible en trente minutes. Ce sont des tests rapides d'orientation diagnostique (TRODs), moins sensibles que les tests RT-PCR, mais ayant l'avantage de fournir un résultat en moins d'une demi-heure ce qui facilite leur utilisation dans les actions de dépistage [80]. Leurs performances dans la détection des variants sont en cours d'évaluation [81].

La plupart des TDR-Ag destinés au diagnostic de la COVID-19 reposent sur une méthode d'immunochromatographie de type « sandwich » et se présentent sous forme de dispositifs à flux latéral simples d'utilisation [79].

### **II.1.3.5 Tests sérologiques**

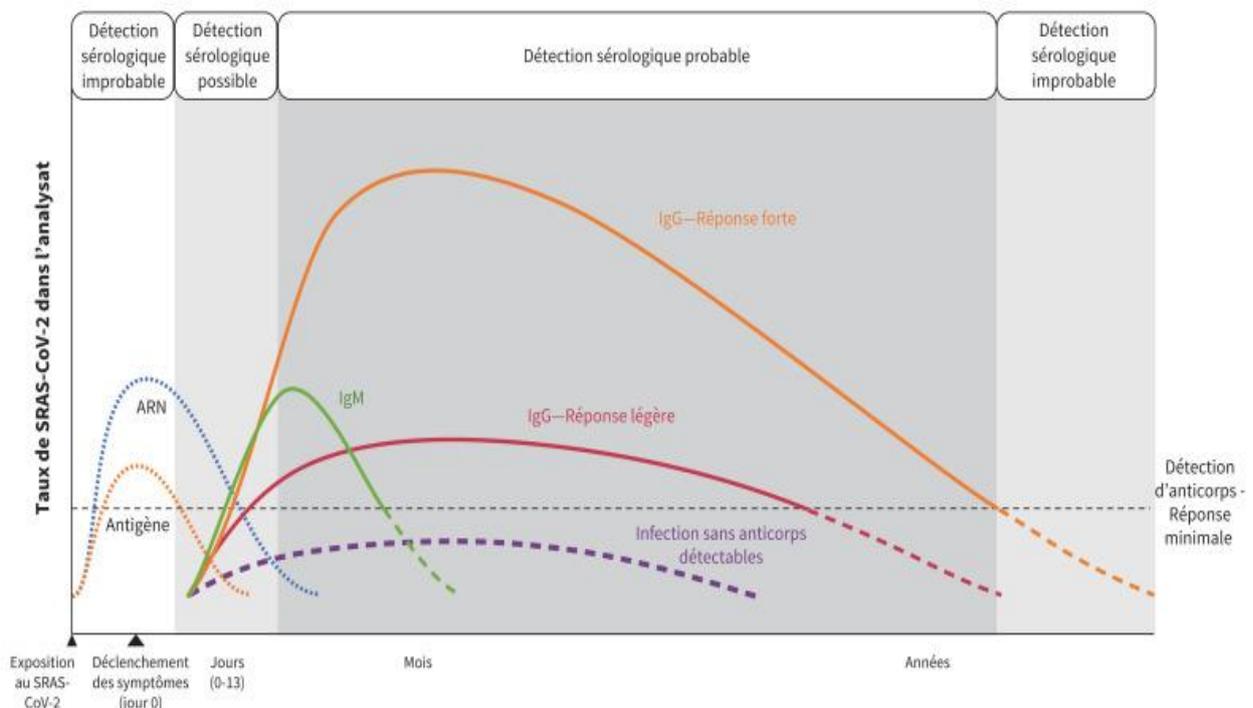
Les tests sérologiques détectent les anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2 et permettent de savoir si le sujet a été infecté par le virus. Ils sont effectués dans les Laboratoires d'analyses médicales, sur prélèvement sanguin, veineux ou capillaire [81]. Différents types de tests

sérologiques sont utilisés : automatisables de type Enzyme-Linked Immunosorbent Assay [ELISA] ou Chimiluminescences Enzyme Immunoassays [CLEIA], ou unitaires (immuno-chromatographiques) [76]. Les tests ELISA sont à préférer aux tests rapides car leurs performances analytiques sont supérieures, notamment pour identifier les anticorps dirigés contre des épitopes susceptibles d'être modifiés du fait de mutations génétiques [81].

### II.1.3.5.1 Evolution des anticorps sériques

Dans la phase précoce de la maladie, les anticorps IgM commencent à apparaître, de manière inconstante, dans les 5 à 7 premiers jours suivant l'apparition des symptômes avec un temps moyen de séroconversion de 10 à 11 jours. Ils sont habituellement bien détectables après 15 jours, avec un taux de séroconversion proche de 100%, mais ils diminuent ensuite assez rapidement pour disparaître après 6 à 7 semaines. Les IgG sont généralement détectables plus tardivement, habituellement bien détectables 15 jours après le début de l'infection, et leur taux s'accroît progressivement jusqu'à la 5ème ou 6ème semaine après début des symptômes (Figure 12) [82,83].

Toutefois, dans certains cas légers et asymptomatiques, les anticorps peuvent être indétectables, du moins à l'intérieur de la période à laquelle certaines études récentes font référence (< 46 j) [84,85].



**FIGURE 12 : Description et projection de la cinétique de la réponse immunitaire à l'infection causée par le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2 (SRAS-CoV-2).**

### **II.1.3.5.2 ELISA**

C'est une technique immuno-enzymatique de détection qui se fait en laboratoire et qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps. L'utilisation d'anticorps monoclonaux rend la détection spécifique et la réalisation d'une gamme en parallèle (droite de référence réalisée en diluant de manière sériée avec un contrôle positif) permet de quantifier les anticorps du patient présents dans le sang.

Une réaction enzymatique rend toutefois cette technique dépendante de la température, du pH et de l'éclairement. Concrètement, l'ELISA nécessite la réalisation de différentes étapes successives : antigène spécifique du virus SARS-CoV-2 (la protéine N contenue dans la nucléocapside virale ou le récepteur de liaison du virus est fixé dans le fond d'un puit.

Les anticorps présents dans l'échantillon de plasma du patient vont se fixer spécifiquement sur l'antigène. Un anticorps de détection va ensuite fixer les anticorps humains à doser. Ces anticorps de détection sont couplés à une enzyme, qui en présence de son substrat le transforme en produit de réaction détectable, et mesurable grâce à l'apparition d'une coloration. L'intensité de celle-ci est proportionnelle à la quantité d'enzyme, et donc à la concentration d'anticorps recherché. Certaines de ces étapes prennent plusieurs heures. Le test ELISA n'est donc pas un test rapide et il ne peut être réalisé au lit du malade [74].

### **II.1.3.5.3 Test sérologiques rapides**

Ces tests unitaires, bien souvent immuno-chromatographiques et uniquement qualitatifs, sont généralement réalisés sur prélèvement sanguin, par ponction capillaire.

Par opposition au test ELISA, ce sont des tests rapides qui permettent d'établir un diagnostic en quelques minutes (<15 minutes). Une réaction chimique, enzymatique ou immunologique fait apparaître une coloration particulière permettant d'interpréter immédiatement le résultat [76,74].

## **II.1.4 traitement**

Il n'existe pas de traitement ayant démontré à ce jour une efficacité sur la réduction de complications ou la durée des symptômes avec un niveau de preuve suffisant. Des essais cliniques en cours pourront faire évoluer la prise en charge spécifique de la Covid-19. Le médecin pourra inciter les patients à participer aux essais cliniques en soins de santé primaires. Le traitement de la Covid-19 est symptomatique, et adapté selon les signes cliniques présentés. En cas de fièvre ou de douleur, le paracétamol est le traitement de première intention. Il est recommandé de ne pas avoir recours aux anti-inflammatoires non stéroïdiens compte tenu de la possible association entre leur utilisation et la survenue d'une forme sévère de la maladie. Les patients avec des maladies chroniques ne doivent pas arrêter leur traitement sans avis médical. Il n'y a pas lieu de recommander un arrêt systématique des inhibiteurs de l'enzyme de conversion, des sartans, des corticoïdes oraux ou inhalés utilisés en

traitement de fond pour des maladies chroniques. Il n'y a aucune indication d'antibiothérapie en dehors d'une infection bactérienne. Une anticoagulation préventive est indiquée chez des patients alités ou à risque thromboembolique. Il n'y a pas d'autre indication en l'état actuel des connaissances. En l'état actuel des connaissances, les corticoïdes systémiques ne sont pas indiqués chez les patients ayant une forme de Covid-19 non oxygène-requérante. Pour ces malades, l'usage des corticoïdes est délétère [76].

L'infection par le SARS-COV2 peut donner lieu, chez certains patients, une hypoxie aiguë nécessitant l'administration d'oxygène pendant une période limitée. L'oxygène ne doit être utilisé qu'en cas de pneumopathie grave à Covid-19 dès que la SPO2 est inférieur à 92%. L'objectif est de maintenir une SPO2 entre 92% et 95% [87].

## **II.1.5 Vaccination**

### **II.1.5.1 Vaccins à ARN**

Les vaccins à ARN contiennent généralement de l'ARN messager (ARNm), L'ARN doit seulement être absorbé dans le cytoplasme des cellules pour provoquer la formation de protéines sur le ribosome. Pour faciliter l'absorption dans les cellules, l'ARN peut être conditionné dans des liposomes ou des nanoparticules lipidiques (LNP) [88].

Exemple de vaccin à ARNm :

- Comirnaty® (BNT162b2, tozinameran) Fabricant par Biontech (Allemagne) et Pfizer (USA).

L'ARN messager à nucléoside modifié par une addition d'une coiffe en 5' contenu dans Comirnaty est formulé dans des nanoparticules lipidiques, permettant de délivrer l'ARN non replicatif dans les cellules-hôtes et l'expression directe et transitoire de l'antigène S du SARS-CoV-2. L'ARNm code la protéine S de pleine longueur, avec deux mutations ponctuelles au sein de l'hélice centrale. La mutation de ces deux acides aminés en proline permet de stabiliser la protéine S dans sa conformation de préfusion pour une meilleure antigénicité. Le vaccin induit à la fois la production d'anticorps neutralisants et une immunité cellulaire en réponse à l'antigène Spike (S), pouvant contribuer à la protection contre la covid 19 [89].

D'autre vaccin a ARNm:

- Vaccin Covid-19 Moderna (ARNm-1273), Fabricant: Moderna (USA).
- CVnCoV, Fabricant : Curevac (Allemagne), Bayer (Allemagne), Glaxo-Smith-Kline (Royaume-Uni) [88].

### **II.1.5.2 Vaccins vectoriels**

Dans les vaccins vecteurs, le matériel génétique d'un antigène de vaccin, est incorporé dans un virus porteur infectieux bien connu, qui est ensuite injecté sous forme de vaccin. Ce vecteur transporte le matériel génétique dans les cellules du corps. Là, le gène supplémentaire pour l'antigène vaccinal dans le virus vecteur est lu et traduit en une protéine virale, qui provoque alors la production d'anticorps et de cellules T spécifiques contre cet antigène chez la personne vaccinée [88].

Exemple de vaccin vectoriel :

- Vaccin Covid-19 Astra-Zeneca (ChAdOx, AZD1222), Fabricant : Astra-Zeneca (Royaume-Uni et Suède).

Le vaccin Astra-Zeneca est un vaccin monovalent, composé d'un seul vecteur recombinant d'adénovirus de chimpanzé à réplication déficiente (ChAdOx1), codant la glycoprotéine S du SARS-CoV-2 [89].

- Sputnik V, fabricant Centre national de recherche Gamaleya pour l'épidémiologie et la microbiologie (Russie) [88].

Le vaccin Sputnik V utilise la protéine S (ou protéine de spicule) complète du SARS-CoV-2 avec des substitutions de proline, dont le gène est inséré dans le génome d'un adénovirus humain non répliatif de type 26 ou de type 5 [89].

- Autre vaccins vectoriels: Vaccin Covid-19 Janssen (Ad26.CoV2.5) [88].

### **II.1.5.3 Vaccins à base de protéines recombinante et particules de type virus**

Les vaccins à base de protéines contiennent des protéines virales individuelles qui sont particulièrement pertinentes pour une réponse immunitaire. Cependant, ces vaccins doivent souvent être renforcés avec des adjuvants. Cela n'est généralement pas nécessaire pour les particules de type virus comme alternative aux vaccins protéiques [88].

Exemple : - NVX-CoV2373 Fabricant : Novavax (USA) Vaccin sous-unitaire recombinant à nanoparticules avec adjuvant [88].

### **II.1.5.4 Vaccin anti-covid 19 entier inactivé**

Exemple : Coronovac, Fabricant : Sinovac Biotech (Chine) [88,89].

# **CHAPITRE III**

**« Place des tests rapides dans le dépistage du COVID-19 »**

### III.1 Place des tests rapides dans la stratégie de la prise en charge du COVID-19

À ce jour, les tests rapides ont une place dans la surveillance épidémiologique, dans l'identification des personnes étant ou ayant été en contact avec le virus (en complément de la RT-PCR qui reste le test de première intention pour le diagnostic de la phase aiguë du COVID-19). L'objectif de la présente évaluation est de définir la place des tests rapides dans la prise en charge de la maladie COVID-19.

#### III.1.1 Mise au point de l'OMS sur les tests rapides

En réponse à la pandémie croissante du COVID-19 et aux pénuries de capacité et de réactifs de tests moléculaires en laboratoire, plusieurs fabricants de tests de diagnostic ont développé et commencé à vendre des appareils rapides et faciles à utiliser pour faciliter les tests en dehors des laboratoires.

Ces kits de test simples sont basés soit sur la détection de protéines du virus COVID-19 dans des échantillons respiratoires (par exemple crachats, écouvillonnage de la gorge) ou sur la détection, dans le sang ou le sérum, d'anticorps humains générés en réponse à une infection. Cependant, avant que ces tests puissent être recommandés, ils doivent être validés dans les populations et les contextes appropriés. Les tests inadéquats peuvent manquer les patients atteints d'une infection active ou classer à tort les patients comme étant atteints de la maladie alors qu'ils ne le sont pas, ce qui entrave d'avantage efforts de lutte contre les maladies.

Avec les données limitées qui étaient disponible en Avril 2020, L'OMS n'a pas recommandé l'utilisation de tests de diagnostic rapide de détection d'antigène pour les soins aux patients, bien que la recherche sur leurs performances et leur utilité diagnostique potentielle soit fortement encouragée, aussi bien que pour l'utilisation des tests de diagnostic rapide de détection d'anticorps n'était pas recommandé pour les soins aux patients, mais la poursuite des travaux visant à établir leur utilité dans la surveillance des maladies et la recherche épidémiologique était encouragé [90]. Pour l'identification des personnes infectées par le SARS-CoV-2, les tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN) sur des échantillons des voies respiratoires restent les tests de référence.

Le 11 Septembre 2020, l'OMS a issue de nouvelles recommandations concernant les tests de diagnostic rapide de détection d'antigène, et ça va dans le sens que les TDR-Ag du SARS-CoV-2 qui répondent aux exigences minimales de performance, à savoir une sensibilité  $\geq 80\%$  et une spécificité  $\geq 97\%$  par rapport à un test TAAN « techniques d'amplification des acides nucléiques » de référence, peuvent être utilisés pour diagnostiquer une infection à SARS-CoV-2 dans divers contextes où les TAAN ne sont pas disponibles ou où l'utilité clinique du dépistage serait compromise par des délais trop longs d'obtention des résultats. Pour que les performances soient optimales, le dépistage par les TDR-Ag doit être effectué par des opérateurs formés, dans le strict respect des instructions fournies par le fabricant et dans les 5 à 7 premiers jours suivant l'apparition des symptômes [91].

Concernant les tests de diagnostic rapide de détection d'anticorps, il n'y a pas encore de preuves que la détection d'anticorps spécifiques à la COVID-19 chez un individu lui confère une protection contre une réinfection par le SARS-CoV-2. Et l'OMS alerte toujours sur le :

-Risque de faux négatifs : vu que la majorité des patients ne développent une réponse anticorps que dans la deuxième semaine suivant l'apparition des symptômes.

Risque de faux positifs : test non spécifique au SARS-COV-2 ; réaction croisée possible avec d'autres agents pathogènes y compris d'autres coronavirus humains.

L'OMS a établi le 28 Février 2020 une liste d'utilisation en urgence (Emergency Use Listing - EUL) afin d'examiner rapidement les tests de diagnostic pour déterminer leur éligibilité pour acquisition par l'OMS et d'autres partenaires. Depuis le 17 Avril 2020, l'OMS invite les fabricants de TDR-Ac pour SRAS-CoV-2 à soumettre une demande d'inscription sur la liste des utilisations d'urgence [92].

### **III.1.2.1 Situations dans lesquelles il est déconseillé d'utiliser les tests antigéniques du SARS-CoV-2 selon l'OMS**

L'organisation Mondiale de la Santé recommande l'utilisation de tests antigéniques du SARS-CoV-2 selon certaines exigences citées déjà ci-dessus, mais au même temps déconseille leur utilisation dans plusieurs cas pour des raisons différentes.

Il est déconseillé d'utiliser des TDR Ag du SARS-CoV-2 chez une personne ne présentant pas de symptômes, sauf s'il s'agit d'un cas confirmé, à cause de la faible probabilité pré-test (*c'est-à-dire la probabilité que le patient soit atteint de la maladie, estimée avant tout dépistage sur la seule base de la situation épidémiologique, des observations cliniques et des contacts qu'aurait pu avoir le patient avec un cas*).

Il ne faut pas utiliser les TDR Ag également dans les endroits où il n'y a aucun cas ou seulement des cas sporadiques, car ces tests ne sont pas recommandés dans ce contexte, que ce soit à des fins de surveillance ou de prise en charge des cas, les résultats de test positifs auraient de fortes chances d'être de faux positifs, il est préférable de recourir à des tests moléculaires. Si en raison de valeurs prédictives positives et/ou négatives faibles ou inconnues, les patients dont le test est positif sont voués à être pris en charge de la même manière que ceux dont le test est négatif, et le test ne présente aucun avantage, donc il est à éviter dans les situations où le résultat du test n'aura pas d'incidence sur la prise en charge du patient.

Pour protéger les agents de santé, le port de gants, d'une blouse, d'un masque et d'un écran facial ou de lunette de protection est indispensable lors du prélèvement d'échantillons respiratoires chez les cas suspects du COVID-19, quel que soit le test effectué et donc notamment les TDR sont découragés en cas d'insuffisance des mesures de biosécurité et de lutte contre l'infection.

D'autre part la prévalence de la COVID-19 est très variable parmi les voyageurs et il n'est donc pas possible de déterminer les valeurs prédictives positives et négatives des résultats

dans cette population. Les résultats positifs et négatifs devraient être confirmés par des tests supplémentaires pour accroître les valeurs prédictives à des fins de prise de décisions, et c'est pour cela que le dépistage du COVID-19 par les tests de diagnostic rapide antigénique est ainsi déconseillé aux points d'entrée dans les aéroports et aux frontières.

Tandis que pour le dépistage avant un don de sang, ils sont contre-indiqués pour raison qu'il n'y a pas nécessairement de corrélation entre un résultat de test de diagnostic rapide antigénique positif et la présence d'une virémie. Les donneurs de sang asymptomatiques ne répondent pas à la définition de *cas suspect* [105].

### **III.1.2.2 Définition d'un cas suspect**

Par définition, un cas suspect est un patient qui présente :

- Au moins un des symptômes majeurs d'apparition aigue suivants : toux, dyspnée, douleurs thoracique, anosmie ou dysgueusie, sans autre cause évidente.
- Ou au moins deux des symptômes mineurs suivants : fièvre, douleurs musculaires, fatigue, rhinite, maux de gorge, maux de tête, anorexie, diarrhée aqueuse, confusion aigue, chutes répétées, sans autre cause évidente.
- Une aggravation des symptômes respiratoires chroniques (BPCO, asthme, toux chronique...), sans autre cause évidente.
- Toute personne présentant une infection respiratoire aigüe quelle que soit sa gravite, dans les 14 jours suivant l'une des expositions suivantes :
  - \* Un contact étroit avec un cas confirmé ou probable de Covid-19, pendant que ce dernier était symptomatique.
  - \* Toute personne ayant travaillé ou ayant séjourné dans un service hospitalier de prise en charge des cas d'infection COVID-19 [94].

## **III.2 Approvisionnement des tests rapides en Algérie**

### **III.2.1 Pandémie du COVID-19 et situation sanitaire en Algérie**

Le 1er cas COVID-19 en Algérie, un ressortissant italien, a été notifié le 25 février 2020 dans une base pétrolière à Hassi Messaoud dans la wilaya de Ouargla et à partir du 02 mars 2020 un nouveau foyer a été détecté dans la wilaya de Blida suite à une alerte lancée par la France après la confirmation au COVID-19 de deux citoyens Algériens résidant en France ayant séjourné en Algérie. Depuis l'épidémie s'est étendue à l'ensemble du territoire national avec une nette prédominance dans les wilayas du nord [95]. Au début de l'épidémie L'Algérie disposait d'un seul laboratoire de dépistage, l'Institut Pasteur d'Algérie, pouvant effectuer jusqu'à 130 tests PCR par jour [96]. Le 23 mars, un nouveau laboratoire de dépistage du Covid-19 relevant de l'Institut Pasteur d'Oran est ouvert afin de réduire la pression exercée sur celui d'Alger, le nouveau centre rendra les résultats des analyses en 3 ou 4 heures [97]. Une

troisième annexe de l'Institut Pasteur est entrée en service à Constantine le 25 mars, suivi d'une autre annexe à Ouargla le 29 mars 2020 [98].

Le 29 mars, l'Institut Pasteur d'Algérie, lance un appel aux laboratoires de biologie médicale à travers le territoire national, disposant de certains équipements et réactifs nécessaires au diagnostic du Covid-19, de participer aux opérations de dépistage, tout en assurant que ses équipes sont disposées à accompagner les laboratoires pour le démarrage de l'activité [99].

Dans une déclaration à l'agence officielle, le Pr Derrar, directeur général de l'Institut Pasteur d'Algérie indique que son institut reçoit entre 100 et 200 tests PCR de nouveau coronavirus par jour. Les analyses confirment environ 10% de ces échantillons, comme positifs au COVID-19, selon lui. La capacité de l'institut est portée à atteindre le double les 400 analyses par jour, si l'on prend en compte les annexes de l'institut et les laboratoires universitaires et privés, tel que l'annexe d'Oran, le laboratoire hospitalier de Ouargla et le laboratoire universitaire de Tizi-Ouzou [100].

### **III.2.2 Début de l'approvisionnement des tests de diagnostic rapide en Algérie**

Malheureusement, le temps passe et avec l'augmentation des cas quotidien s'approchant de la barre des 60.000 cas confirmés en Octobre 2020, l'Algérie se trouve dépassé et pour faire face au manque de moyens les autorités multiplient leurs efforts pour disposer des réactifs nécessaires au dépistage de ce mal. *"Des centaines de milliers de tests PCR devraient être importés dans les prochains jours"*, promet le ministre de l'Industrie pharmaceutique, Lotfi Benbahmed et afin de compenser le manque de tests PCR et l'attente de leurs résultats, des tests antigéniques vont arriver en Algérie, annonce le Ministre en Novembre 2020 et précise que les opérateurs qui veulent disposer de ces tests doivent se rapprocher de son département. Le 08 Novembre 2020 le premier ministre a arrêté, dans le cadre du dispositif adopté par les pouvoirs publics dans la gestion de la crise sanitaire la dotation des structures hospitalières de tous les moyens nécessaires y compris *les tests antigéniques*, en cas de besoin. Tout en précisant la possibilité de recours à ces examens en "l'absence de tests PCR » le directeur général de l'Institut Pasteur en Algérie, Pr Fawzi Derrar a assuré sur les ondes de la Chaîne 3 de la Radio nationale des efforts engagés par l'Algérie afin d'"élargir et d'uniformiser" l'accès à ce type de dépistage, à travers l'ensemble du territoire national [101,102].

### **III.3 Facilitation de l'approvisionnement du marché national en tests de diagnostics rapides en riposte à la pandémie du COVID 19 en Algérie**

Avec l'augmentation des cas quotidiens, pour faire face au manque de moyens pour tester le coronavirus (Covid-19), l'Algérie a dû s'adapter, et la hausse des contaminations au coronavirus en Algérie a poussé les autorités à prendre de nouvelles mesures exceptionnelles destinées à la facilitation de l'approvisionnement du marché national en produits pharmaceutiques, en dispositifs médicaux et en équipements de détection en riposte à la pandémie du Coronavirus (COVID-19).

Ces mesures ont été fixées par un décret exécutif publié au JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE (N 27). Selon l'article 2 de ce décret datant du 5 mai 2020,

ces mesures exceptionnelles concernent les opérations de fabrication et d'importation effectuées par les opérateurs dûment agréés par les services compétents du ministère de la Santé. Les opérateurs non agréés peuvent, exceptionnellement, être autorisés par les services compétents du ministère chargé de la santé, à effectuer des opérations d'importation de dispositifs médicaux et d'équipements de détection destinés à des dons gratuits, stipule l'article 3 ces dons sont acheminés, selon le cas, vers la pharmacie centrale des hôpitaux ou l'institut Pasteur d'Algérie, détaille ce texte licite. Ainsi, selon l'article 4 de ce même décret, les opérateurs non agréés peuvent, exceptionnellement, être autorisés par les services compétents du ministère de la santé, à effectuer des opérations d'importation des dispositifs médicaux destinés à la protection individuelle de leurs personnels ou à la désinfection des lieux de travail.

L'article 5, énonce que la liste des produits pharmaceutiques, des dispositifs médicaux, des équipements de détection, ainsi que des accessoires et des pièces de rechange de ces équipements, importés ou acquis localement, doit être établie par les services concernés du ministère chargé de la santé, et validée par le comité scientifique de suivi de l'évolution de la pandémie du Coronavirus (COVID-19), créé au niveau dudit ministère.

En outre, l'article 10 dicte que les produits pharmaceutiques et les dispositifs médicaux cités à l'article 5, ne sont pas soumis aux dispositions relatives à l'interdiction d'importation des produits pharmaceutiques et des dispositifs médicaux destinés à la médecine humaine fabriqués en Algérie, prévues par la réglementation en vigueur, et bénéficient de procédures douanières simplifiées, comme cité dans l'article 12.

Les produits pharmaceutiques et dispositifs médicaux cités à l'article 5, notamment les équipements de protection individuelle et les réactifs de diagnostic, destinés à la prise en charge des patients atteints du Coronavirus (COVID-19) sont exceptionnellement autorisés afin d'être utilisés dans le cadre de la prévention et de la lutte contre la propagation du Coronavirus (COVID-19).

Il est important de préciser que les dispositions de ce décret sont temporaires, c'est-à-dire leur effet prend fin dès la déclaration officielle de la fin de la pandémie du Coronavirus (COVID-19) [103].

#### **III.4 Mesures de dédouanement simplifié dans le cadre de la lutte contre la pandémie COVID 19**

Dans le cadre des efforts nationaux de lutte contre la propagation du coronavirus (Covid-19), et en appui à l'ensemble des procédures de simplification en vigueur, la Direction générale des Douanes porte à la connaissance de tout opérateur, *agréé ou autorisé par les services compétents du ministère de santé*, intervenant dans le commerce extérieur, d'une manière permanente ou occasionnelle, habilitée à introduire des déclarations en douane, ou pour son compte, et n'ayant pas été interdite d'accès au système d'information des douanes, qu'ils puissent bénéficier des procédures simplifiées de dédouanement, prévues par l'article 12 du décret exécutif N°20-109 du 5 Mai 2020.

Les tests de diagnostic rapide ont bénéficié de ces procédures, et vu que les marchandises éligibles de la procédure de dédouanement simplifiée, et à l'importation incluent les produits pharmaceutiques, les dispositifs médicaux, les équipements de détection et les accessoires et les pièces de rechange de ces équipements, *dont la liste est établie par les services du ministère chargé de la santé et validé par le comité scientifique de suivi de l'évolution de la pandémie du Coronavirus COVID-19.*

Les procédures de dédouanement simplifiées sont accordées, pour tous les régimes douaniers autorisés, sans préjudices des exclusions prévues dans les dispositions spécifiques, pour l'importation des marchandises objet du décret exécutif sus-indiqué.

Les procédures de déclarations simplifiées, autorisées, prennent la forme de différentes déclarations : simplifiées, provisoires ou anticipées, dotés d'un délai d'un mois pour la régularisation et la souscription chacune.

-La déclaration simplifiée : c'est une déclaration introduite, et assortie d'un engagement de régularisation par une déclaration complémentaire (définitive), pour le dédouanement et l'enlèvement *urgent ou express* des marchandises importées avec une partie seulement d'énonciations exigibles en matière de déclaration en détail, ou de documents requis, à condition que ces énonciations et documents soient suffisants pour l'identification des marchandises concernées et pour la mise en œuvre du régime douanier sollicité.

Elle permet l'enlèvement des marchandises, au vu d'un document commercial ou de tout autre document accepté par l'administration des douanes ; Sa régularisation par le dépôt d'une déclaration en détail réglementaire doit intervenir dans *un délai d'un mois* par le service des douanes en charge du dossier.

-La déclaration provisoire : La déclaration provisoire dite « déclaration incomplète », est une déclaration en détail, comportant un engagement cautionné, dans le but de compléter ultérieurement cette déclaration ou de produire les documents manquants, dans *un délai d'un mois*.

Elle est déposée au niveau de l'IPS, par le déclarant/opérateur, lorsque, pour des raisons valables, ne dispose pas de tous les renseignements nécessaires pour l'établissement de la déclaration en détail réglementaire ou ne peut produire immédiatement les documents requis à l'appui de cette déclaration.

-La déclaration anticipée : La déclaration anticipée est une déclaration en détail déposée avant l'arrivée des marchandises et permettant leur enlèvement immédiat, dès leur arrivée. La déclaration doit être régularisée avant enlèvement des marchandises. *Un délai d'un mois maximum* avant l'arrivée des marchandises, peut être accordé pour la souscription de la déclaration anticipée.

Si les marchandises ne sont pas présentées dans ce délai de 30 jours, la déclaration anticipée est annulée d'office et considérée comme ne pas avoir été déposée. La déclaration anticipée permet à l'opérateur, entre autres, d'obtenir les documents indispensables au dossier de dédouanement et l'enlèvement rapide de sa marchandise. Pour les services des douanes, la

déclaration anticipée permet l'obtention des informations, préalablement, à l'arrivée des marchandises, nécessaires au contrôle, à la détermination des éléments d'assiette et à la gestion des risques.

Ces déclarations, sont des déclarations initiales qui doivent être régularisées par des déclarations complémentaires (définitives), la déclaration complémentaire est réputée constituer avec la déclaration initiale un acte unique et indissociable, prenant effet à la date d'enregistrement de la déclaration initiale. Une copie de la déclaration introduite dans le cadre de l'une des procédures simplifiées est annexée à la déclaration en détail définitive. Le non-respect du délai de régularisation, fixé préalablement par le service, peut être sanctionné par la suspension ou le retrait du bénéfice de la procédure de dédouanement simplifiée [104].

### **III.5 Lancement de l'Algérie dans la production locale des tests de diagnostic rapide**

Le ministère de l'Industrie pharmaceutique a annoncé le dimanche 29 Novembre 2020, dans un communiqué que trois laboratoires nationaux ont commencé à produire des tests antigéniques et des tests PCR dans le cadre de la lutte contre le coronavirus (Covid-19).

Le Ministère de l'Industrie Pharmaceutique a notifié que dans le cadre de la riposte au COVID-19 et pour assurer la disponibilité et l'accessibilité des mesures de protection au public, la production de tests antigéniques et PCR a été récemment lancée par trois (03) laboratoires nationaux, a-t-il souligné.

Il s'agit des laboratoires « HUPP et IMD » qui collectent et transportent les kits, avec auprès de 80 000 kits quotidiens, le laboratoire « IMD », pour les kits réactifs PCR de production quotidienne de 10 000 kits par jour, et le laboratoire « SALEM » pour production de tests de détection d'antigènes rapide, dont la capacité de production quotidienne est de 30 000 tests journaliers, a déclaré le ministère.

*"Les produits sont en cours d'homologation au niveau de l'Agence nationale des produits pharmaceutiques", a finalement ajouté le ministre [106].*

Auparavant, Vital Care, une société à capitaux algériens, a lancé lundi 10 Aout 2020, à Alger, le processus de production des premiers lots de validation des tests de diagnostic rapide sérologiques de la COVID-19, permettant des résultats en 15 minutes.

Des essais « *concluants* » ont été menés sur des patients présentant des symptômes et d'autres patients ne présentant aucun signe d'infection au CHU Beni Messous d'Alger. En conséquence, l'Algérie est devenue le premier pays du Maghreb et le deuxième pays d'Afrique à commencer à fabriquer de tels tests après l'Afrique du Sud. Coopérant initialement avec des entreprises Jordaniennes et Canadiennes qui assurent le transfert de technologie, pour produire 200 000 tests par semaine.

À l'heure actuelle, les pouvoirs publics ont mis en place un corridor vert spécifiquement pour les entreprises actives dans l'industrie pharmaceutique, notamment celles liées à la gestion de la pandémie du COVID-19, afin de promouvoir l'ensemble de leurs activités d'importation au niveau de l'administration douanière et de la Banque d'Algérie [107].

### **III.6 Plafonnement des prix des tests de diagnostic rapide**

Afin de les rendre les tests de dépistage du COVID-19 accessibles à tous les citoyens, Les tarifs des tests sérologiques, antigénique et même RT-PCR doivent être fixés. En conclusion des entretiens menés par le ministre de la Santé, de la Population et de la Réforme hospitalière, Abderrahmane Benbouzid, avec les représentants de laboratoires d'analyses médicales privés (membres de Bio partenaires) les coûts ont été plafonnés

Les coûts des tests de dépistage du coronavirus (COVID-19) ont été plafonnés à 8800 DA pour la PCR, 3600 DA pour le test antigénique et à 2200 DA pour le test sérologique, a annoncé le mercredi, 23 Décembre 2020, le ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme hospitalière dans un communiqué [108].

Antérieurement Le ministre algérien de la sécurité sociale a déjà annoncé que son département allait procéder au remboursement des tests de dépistage du coronavirus à partir du mois de janvier 2021. Ce remboursement concernera le scanner thoracique, le RT-PCR, le test sérologique et antigénique.

Ainsi, ce remboursement sera effectué sur base de prix plafonnés convenus avec l'association algérienne des laboratoires et radiologues [109].

*"En application des instructions du Président de la République, M. Abdelmadjid Tebboune et en exécution des décisions de la réunion du Gouvernement tenue le 23 décembre dernier, le ministère du Travail informe les citoyens assurés sociaux qu'il sera procédé, à partir du 1er janvier 2021, au remboursement des actes médicaux relatifs au dépistage de la maladie de la Covid-19, à travers les caisses de sécurité sociale CNAS et Casnos", Le ministère du Travail, de l'Emploi et de la Sécurité sociale explique dans un communiqué [110].*

### **III.7 Tests rapides à usage unique utilisé pour détecter les IgG après vaccination**

De nouveaux tests rapides s'inscrivent dans la campagne vaccinale : en recherchant les titres d'anticorps neutralisants anti-SARS-CoV-2 IgG dans un petit échantillon de sang. Ils donnent une indication sur le niveau d'immunisation conférée par les vaccins. Ces tests ciblent les anticorps IgG dirigés contre la protéine de spicule complète du virus SARS-CoV-2 et a donc le potentiel d'aider à identifier la réponse du système immunitaire aux trois vaccins actuels approuvés par la « Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA) ». L'analyse pourrait aider à déterminer si le système immunitaire des personnes réagit de la bonne manière au vaccin et, à terme, pourrait être un facteur prédictif d'une réponse immunitaire protectrice.

*« On va ainsi pouvoir vérifier si la personne a bien répondu au vaccin et que des anticorps sont bien apparus, atteste Laurence Pellegrina. C'est par exemple utile pour les patients immunodéprimés ou présentant des pathologies chroniques comme les insuffisants rénaux, dont on sait qu'ils répondent moins bien au vaccin ». Mais à terme, on peut imaginer ces tests comme des examens de « routine » afin d'évaluer l'efficacité d'une campagne vaccinale, ou même pour tout un chacun qui voudrait être certain que son vaccin génère une immunité. « En*

*pratiquant ces tests à intervalles réguliers, on pourra aussi vérifier à quel rythme les anticorps diminuent et donc la durée de la protection du vaccin »*, ajoute Laurence Pellegrina.

Les premiers tests sérologiques Covid-19 détectaient essentiellement les anticorps dirigés contre l'antigène N (nucléocapside). Les nouveaux tests quantitatifs ciblent les anticorps contre l'antigène de la protéine de pointe S (spicule), car c'est elle qui est introduite dans les vaccins actuels [111].

Exemple :

#### LE TEST RAPIDE ABC-19™

- Sensibilité : 98,03 %, Spécificité : 99,56 %.
- Formation minimale des opérateurs requise.
- Pour une utilisation dans plusieurs emplacements tels que les lieux de travail, les pharmacies ou les cabinets médicaux [112].

# **CHAPITRE IV**

**« Partie Pratique »**

## IV. Etude comparative des tests rapides antigènes et anticorps utilisés en Algérie

### IV.1.1 Objectif :

Afin de faire une étude comparative, on a rassemblé des listes de différents tests rapides antigéniques et sérologiques importés et/ou fabriqués localement, qui étaient utilisés en Algérie pendant la pandémie du COVID-19, en se référant aux fiches techniques fournies par leurs fabricants, leurs sensibilités et spécificités respectives étaient regroupés dans des tableaux comparative pour le but d'identifier les différentes offres sur le marché algérien, et définir les tests possédants les meilleures performances analytiques selon les résultats des études menées par les fabricants.

### IV.1.2 Matériel :

- Les fiches techniques des tests rapides présentées par les fabricants

### IV.1.3 Liste des tests rapides antigènes importés par les autorités Algériennes

Les tests rapides antigéniques importés en Algérie par les autorités Algériennes sont présentés dans le TABLEAU 3 ci-dessous, incluant la dénomination, laboratoire, pays d'origine, quantité et prix de chaque test respectivement.

**TABLEAU 3 : Liste des tests rapides antigéniques importés en Algérie par les autorités Algériennes**

Désignation	Laboratoire	Pays	Quantité	Prix	Unité
SARS-COV-2 Antigen test kit	Shenzhen Huian Biosci Technology Co. LTD	Chine	5000	2.6	dollar
FORA COVID-19 Antigen Rapid test	FORACARE Suisse Ag	Suisse	5000	106	dollar
STANDARD Q COVID-19 Ag test	SD BIOSENCOR	Corée du sud	5000	112.5	dollar
SARS-COV-2 Antigen test kit (colloidal Gold)	Genrui Biotech Inc	Chine	4000	45	dollar
SARS-COV-2 ANTIGEN TEST CARD	NW PHARM	Chine	600 000	4	dollar
ANDIS SARS-COV-2 and influenza A/B RT	3D BioMed	Chine	30 000	4.8	dollar
One step test for SARS-COV-2 ANTIGEN 5(	GETEIN Biotech	Chine	7000	1.26	dollar
Q-SENS2019-n COV Detection kit	MIXPOLE int.	Corée du sud	50	50	euro
Test diagnostique COVID-19 RT-	SWISSHEAL	Corée du sud	250 000	7	dollar

PCR					
SARS-COV-2 Antigen Rapide test kit	PIKDARE	Italie	50	69.99	euro
Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device	ABBOT	Corée du sud	16	125	dollar
Ichroma COVID-19 Ag	BODITECH MED Inc.	Corée du sud	10 000	75	dollar
SARS-COV-2 Ag cassette	ACCUBIOTECH	Chine	5000	3.5	dollar
SARS-COV-2 Rapid Antigen test 25 T	ROCHE DIAGNOSTICS	France	30	162. 61	euro
TEST COVID-19 AG	VAM VON M	Allemagne	500	80	euro
Humasis COVID-19 Ag test	Humasis	Corée du sud	10 000	4	dollar

#### IV.1.4 Liste des tests rapides antigènes fabriqués localement en Algérie

Les tests rapides antigéniques fabriqués localement en Algérie sont présentés dans le TABLEAU 4 ci-dessous, incluant la dénomination, laboratoire, leurs sensibilités et spécificités respective selon la fiche technique présenté par le fabricant

**TABLEAU 4 : performance de test rapide antigénique fabriquée en Algérie**

Designation	Laboratoire	Sensibilité	Spécificité
Précisio COVID-19 Ag	SALEM Diagnostics	87.5%	100%

#### IV.1.5 Comparaison de la sensibilité et la spécificité entre les différents tests antigènes utilisés en Algérie

A partir de fiches techniques présentées par les fabricants, un tableau comparatif des sensibilités et spécificités entre les différents tests rapides antigéniques utilisés en Algérie en riposte de la pandémie du COVID-19 a été réalisé afin d'identifier les tests les plus pertinents. [TABLEAU 5]

**TABLEAU 5 : Comparaison de la sensibilité et la spécificité entre les différents tests antigènes utilisés en Algérie**

Test	Sensibilité	Spécificité
STANDARD Q COVID-19 Ag test (SD Biosensor)	76.6% (Germany) 88.7% (Brazil)	99.3% (Germany) 97.6% (Brazil)
STANDARD F COVID-19 Ag FIA	93.7%	99.63%

Rapid SARS-COV-2 Antigen test card	93.75%	98.04%
ACCU-TELL SARS-COV-2 Ag cassette (Accubiotechco.LTD)	95%	99.2%
Biocredic COVID-19 PCR SARS-COV-2 Antigen test kit (colloidal Gold) (Genrui Biotech Inc)	85.7%	98.9%
SARS-COV-2 Antigen Rapid test kit (colloidal Gold) (JOYSBIO Tianjin biotechnology)	95.03%	99.02%
SARS-COV-2 Rapid Antigen test (Biosensor)	88.89%	99.05%
FORA COVID-19 Antigen Rapid test	96.52%	99.68%
NADAL COVID-19	>80%	>95%
Humasis COVID-19 Ag test	97.6%	>99.9%
Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device	92%	100%
Test rapide Wondfo 2019-NCOV Abtigen test (Wondflo Biotech)	91.4%	99.8%
Ichroma COVID-19 Ag	96.18%	99.72%
Précisio COVID-19 Ag	87.5%	96.5%
	87.5%	100%

#### IV.1.6 Résultat

Parmi les tests rapides antigéniques importés et fabriqués en Algérie et validés par l'Institut Pasteur d'Algérie, 15 sont inclus dans le TABEALU 5, si dessus qui montre la sensibilité et la spécificité de chaque test respectivement fournis par le fabricant sur la fiche technique et instructions d'utilisation accompagnant chaque test, la majorité de ces tests sont conformes aux modalités exigées par l'OMS étant une sensibilité supérieure ou égale à 80% et une spécificité supérieure ou égale à 97%.

- « NADAL COVID-19 » présente la meilleure sensibilité à 97.6%
- « Humasis COVID-19 Ag test » et « Précisio COVID-19 Ag » présentent la meilleure spécificité à 100%.

#### IV.1.7 Liste des tests rapides Anticorps et test de chimiluminescence importés en Algérie

Les tests rapides sérologiques et tests de chimiluminescence importés en Algérie par les autorités Algériennes sont présentés dans le TABLEAU 6 ci-dessous, incluant la désignation,

laboratoire, pays d'origine quantité et type de chaque test et leurs sensibilité et spécificité respectives.

**TABLEAU 6 : Performances analytiques des Tests rapides Anticorps et Test Chimiluminescences importés en Algérie**

Désignation	Laboratoire	Pays	Type	sensibilité	Spécificité
COVID-19 IgG/IgM Rapid Test	Zhejiang OrientGene Biotech	Chine	Test Diagnostic Rapide Anticorps	IgM: 87.9% IgG: 97.2%	100%
MAGLUMI 2019-nCoV IgM (CLIA)	Snibe Diagnostic	Chine	Chimiluminescence	78.65%	97.5%
MAGLUMI 2019-nCoV IgG (CLIA)	Snibe Diagnostic	Chine	Chimiluminescence	91.21%	97.33%

#### IV.1.8 Liste des tests rapides Anticorps fabriqués localement en Algérie

Les tests rapides sérologiques fabriqués localement en Algérie sont présentés dans le TABLEAU 7 ci-dessous, avec la désignation, laboratoire, leurs sensibilités et spécificités respectives selon la fiche technique présenté par le fabricant

**TABLEAU 7 : Performances Analytiques des tests rapides anticorps fabriqués en Algérie**

Désignation	Laboratoire	Sensibilité	Spécificité
VITAL CARE KIT DE TEST RAPIDE COVID-19 (IgG/IgM)	VitalCare	IgM : 93.8% IgG : 96.1%	IgM : 96.2% IgG : 98.1%

#### IV.1.9 Résultat

En comparaisant, les tests rapides semble avoir une meilleurs performance analytique que les tests de chimiluminescence, et que le test sérologique rapide « COVID-19 IgG/IgM Rapid Test » présente la meilleure spécificité en général à 100% et une meilleure sensibilité IgG à 97.2% par rapport au test produit localement « VITAL CARE KIT DE TEST RAPIDE COVID-19 (IgG/IgM) » qui possède en outre une meilleure sensibilité IgM à 96.1%.

#### IV.2 Etude prospective des performances analytiques d'un test antigénique utilisé en Algérie

La réalisation de tests rapides fait partie de la stratégie de prise en charge des patients COVID-19 dans le centre de Transplantation d'Organe et de Tissus. Ces tests sont envisagés en première intention devant une suspicion de cette infection. Leur positivité apporte un appui diagnostique dans un contexte approprié, alors qu'un résultat négatif ne permet pas de

l'éliminer et suscite le recours au test le plus spécifique dans la phase aigüe de l'infection, la RT-PCR. Afin de mener notre étude, le laboratoire du TOT nous a accueillis comme stagiaires au sein de l'établissement, et parmi la longue liste des tests rapides antigéniques utilisés en Algérie, il était porté à notre attention que ce dernier utilisait « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » de chez ABBOTT et pour cette raison, ce test était spécifiquement choisis pour évaluer ses performances analytiques en termes de spécificité sensibilité, et pourcentage de concordances globale avec la RT-PCR, et confirmer l'utilité de son positionnement dans la stratégie de prise en charge des patients COVID-19 au sein du laboratoire.

#### **IV.2.1 Objectif**

A travers cette étude prospective réalisée sur une période de 03 mois, allant du mois de Février 2021 au mois de Juin 2021, le but est d'évaluer les performances analytiques d'un Test de Diagnostic Rapide « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » pour la détection des antigènes du SARS-CoV-2 utilisé au sein du laboratoire central de biologie médicale du centre de transplantation d'organe et de tissus de Blida, en comparaison avec RT-PCR, considéré comme le test de diagnostic de référence pour COVID-19, dans le but d'estimer sa fiabilité et son éventuel positionnement et place dans le dépistage et la prise en charge du COVID-19.

#### **IV.2.2 Matériels et méthode.**

##### **A- Matériels**

##### **a- Matériel humain**

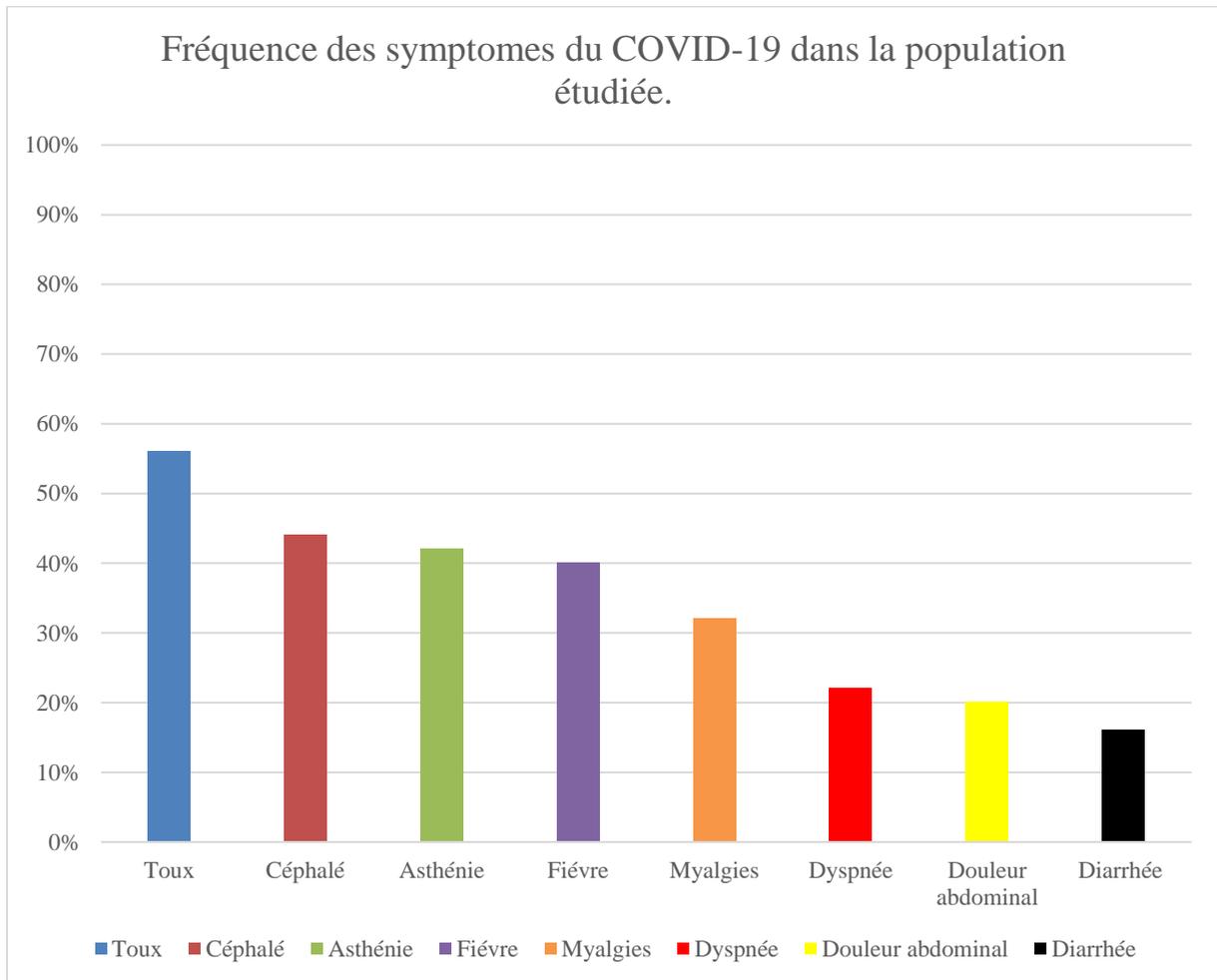
La population étudiée présentait comme motifs :

- Une symptomatologie évocatrice [*toux, dyspnée, douleurs thoracique, anosmie ou dysgueusie, fièvre, douleurs musculaires, fatigue, rhinite, maux de gorge, maux de tête, anorexie, diarrhée aqueuse, confusion aigue, chutes répétées.*].
- Des notions de contact avec des cas COVID-19 confirmés.

28% de notre population suspecte avaient un contact avec des cas confirmés et 72% évoquaient une symptomatologie du COVID-19. La FIGURE 13 nous montre :

- a- Toux : 56%.
- b- Céphale : 44%.
- c- Myalgies : 32%.
- d- Dyspnée : 22%.
- e- Asthénie : 42%.
- f- Fièvre : 40%.
- g- Diarrhée : 16%.
- h- Douleur abdominale : 20%.

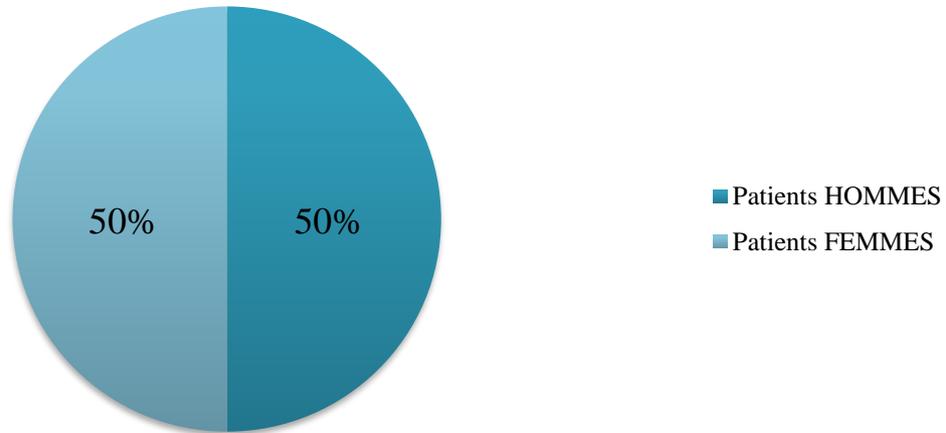
Avec 2% qui présentaient des antécédents diabétiques, et 2% qui étaient sous traitement antiviral.



**FIGURE 13 : Graphe représentant le pourcentage des symptômes du COVID-19 dans la population étudiée.**

Le sexe ratio Homme/Femme était de 1 (25 hommes et 25 femmes), avec une moyenne d'âge de 39.5 [17ans-74]. [FIGURE 14]

## répartition des patients inclus dans l'étude selon le sexe



**FIGURE 14 : Répartition des patients inclus dans l'étude selon le sexe.**

### - Critères d'inclusion et d'exclusion

Tous les patients incluses devaient :

- Être suspects de l'infection au COVID-19.
- Présenter une symptomatologie évocatrice OU avoir un contact avec un cas COVID-19 confirmé.
- Être dépistés par 1 test antigénique rapide « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » ET le test de dépistage du COVID-19 de référence choisit pour cette étude ci-dessous, la RT-PCR.
- Le résultat du test d'un échantillon doit être donné soit comme positif (+) soit négatif (-).

Des patients étaient exclus pour raison :

- Être tester par un test antigénique différent, autre que celui d'ABBOT « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device ».
- Être dépister par le test rapide antigénique seulement.
- Résultat vérifié par un 2ème test autre que la RT-PCR.
- Le résultat de test d'un échantillon relativement douteux.

### b- Matériel de protection.

- Gang stérile.
- Surblouse.
- Masque FFP2.
- Masque chirurgical.

- Charlotte.
- Visière de protection.
- Combinaison de protection.
- Lunette de protection.
- Surchaussure jetable.



**FIGURE 15 : Matériel de protection.**

**c- Matériel du laboratoire**

(Annexe 1 2 4 5 6)

- 25 appareils de test avec dessiccateur dans une pochette individuelle en Aluminium.
- 25 tubes d'extraction.
- 25 bouchons pour tubes d'extraction.

- 25 écouvillons nasopharyngés stérilisés pour le prélèvement.
- Embout filtrant stérile.
- Micropipette.
- Microtubes de 1.5 ml.
- Portoirs à microtubes.
- Hotte avec stérilisation U.V et ventilation.
- Centrifugeuse à vitesse maximum de 15 000 rotations par minute (rpm).
- Minispin.
- Vortex.
- Réfrigérateur a -20 C°.
- Plaque de Micro embout a 96 puits.
- Strips.
- Plaque à Strips.
- Bouchons des Strips.
- Micropipette.
- Thermocycleur.
- Matériels informatique (ordinateur et logiciel).
- Minuterie.
- Conteneur à déchets « bidon jaune ».

#### **d- Réactifs**

(Annexe 3 et 2)

- Solution tampon (1\*9 ml /flacon).
- Buffer AVL.
- Buffer AW1.
- Buffer AW2.
- ARN carrier.
- Master Mix.
- Control positif.
- Control interne.
- Alcool absolu 96°.
- Nucléase free water.

#### **B- Méthode d'étude.**

Notre étude a porté sur 50 patients suspects du COVID-19 adressés au laboratoire central de biologie médicale du centre de transplantation d'organe et de tissu de Blida, pour la réalisation de test de diagnostic rapide antigénique « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » et un test RT-PCR dans le cadre du dépistage de l'infection au COVID-19 pendant la période de 03 mois allant de Février 2021 jusqu'à Juin 2021.

- La référence du test rapide Panbio est 41FK10.
- Le kit utilisé pour l'extraction de l'ARN du virus est : « QIAamp Viral RNA Mini Kit (250) » de référence 52906, commercialisé par QIAGEN. (Annexe7)

- Le kit d'amplification utilisé est : « Gene Proof SARS-CoV-2 », de référence COV2S/GP/100, commercialisé par « GeneProof ». (Annexe 8)

L'interrogatoire du patient, nous a permis de rechercher les signes cliniques en rapport avec le Covid-19, leur date d'apparition, un contact avec un malade confirmé ou suspect, ainsi que les antécédents et les comorbidités. Après l'interrogatoire, on remplit la fiche d'accompagnement du prélèvement, à la recherche du COVID-19 (Annexe 9). Dans un registre, on attribue un numéro à chaque malade, et on écrit son nom, son âge, son adresse, le numéro de téléphone, et la date du prélèvement [FIGURE 16]. On note les malades qui ont fait le prélèvement pour la PCR pendant la journée dans le bordereau d'envoi (Annexe 10).



**FIGURE 16 : Fiche de renseignement.**

- Le Principe du test « Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device est :
- L'immunochromatographie sandwich, décrite dans le chapitre 1.

C'est un test de diagnostic rapide in vitro Pour la détection qualitative de l'antigène SARS-CoV-2 (AG), dans des échantillons sur écouvillons nasopharyngés humains provenant de personnes répondant aux critères cliniques et/ou épidémiologiques du COVID-19. Panbio COVID-19 Ag Rapid Test Device est destiné à usage professionnel uniquement, est à être utilisé comme une aide au diagnostic de l'infection par le SARS-CoV-2. Le produit peut être utilisé dans tout environnement de laboratoire, et hors laboratoire qui répond aux exigences spécifiées dans le mode d'emploi et dans la réglementation locale. Les résultats négatifs

n'empêchent pas l'infection par le SARS-CoV-2, et ils ne peuvent pas être utilisés comme seule base de traitement ou d'autres décisions de prise en charge. Les résultats négatifs doivent être associés aux observations cliniques, aux antécédents du patient et aux informations épidémiologiques. Le test n'est pas destiné à être utilisé comme test de dépistage des donneurs pour le SARS-CoV-2.

- **Le Principe de la RT-PCR**

Le kit PCR est destiné à la détection du SARS-CoV-2, par la méthode PCR de transcription inverse, et de réaction en chaîne par polymérase en temps réel. La PCR en temps réel utilise le principe de base de la PCR classique (amplification cyclique d'un fragment d'ADN en 3 étapes : dénaturation, hybridation et élongation), avec pour différence une amplification mesurée non pas en final mais tout au long de la réaction, donc en temps réel.

Un contrôle interne (IC), qui fait partie du kit PCR, est utilisé comme contrôle pour l'ensemble du processus de diagnostic, c'est-à-dire l'efficacité de l'extraction de l'ARN, l'efficacité de l'étape de transcription inverse (transcription de l'ARN en ADNc) et l'efficacité de l'amplification de la PCR. Le kit PCR utilise la technologie « hot star » qui minimise les réactions non spécifiques, et assure une sensibilité maximale. Il est fourni sous la forme d'un Mastermix prêt à l'emploi.

### **IV.2.3 Test de diagnostic rapide antigénique**

#### **A- Mode opératoire :**

##### **a) Préparation :**

- Laissez tous les composants du kit atteindre une température comprise entre 15 et 30 avant de procéder au test pendant 30 minutes.

- retirez le dispositif de test de la pochette en aluminium avant de l'utiliser. Le placer sur une surface plane, horizontale et propre.

-Tenez le flacon de tampon verticalement et Remplissez le tube d'extraction avec du liquide tampon jusqu'à la ligne de remplissage du tube d'extraction [FIGURE 17].

- si la quantité de tampon est excessive ou insuffisante, un résultat de test incorrect peut se produire.

- Placez le tube d'extraction dans le support de tubes.



**FIGURE 17 : Remplissage du tube.**

**b) Prélèvement :**

- Inclinez la tête du patient en arrière d'environ 45°- 70° pour redresser le passage de l'avant du nez, et insérez l'écouvillon dans la narine [FIGURE 18].
- Insérez l'écouvillon avec une tige flexible dans la narine parallèlement au palais.
- utilisez un écouvillon nasopharyngé dédié pour le prélèvement des échantillons.
- l'écouvillon doit atteindre une profondeur égale à la distance entre les narines et l'ouverture externe de l'oreille.
- En cas de résistance lors de l'insertion de l'écouvillon, retirez-le et essayez de l'insérer dans la narine opposée.
- Frottez et roulez doucement l'écouvillon ,3 à 4 fois. Laissez l'écouvillon en place pendant plusieurs secondes pour absorber les sécrétions.
- Retirez lentement l'écouvillon tout en faisant tourner.
- Le prélèvement doit être fait correctement sinon cela risque de fausser les résultats.



**FIGURE 18 : Prélèvement nasopharyngé.**

**c) Extraction de l'échantillon :**

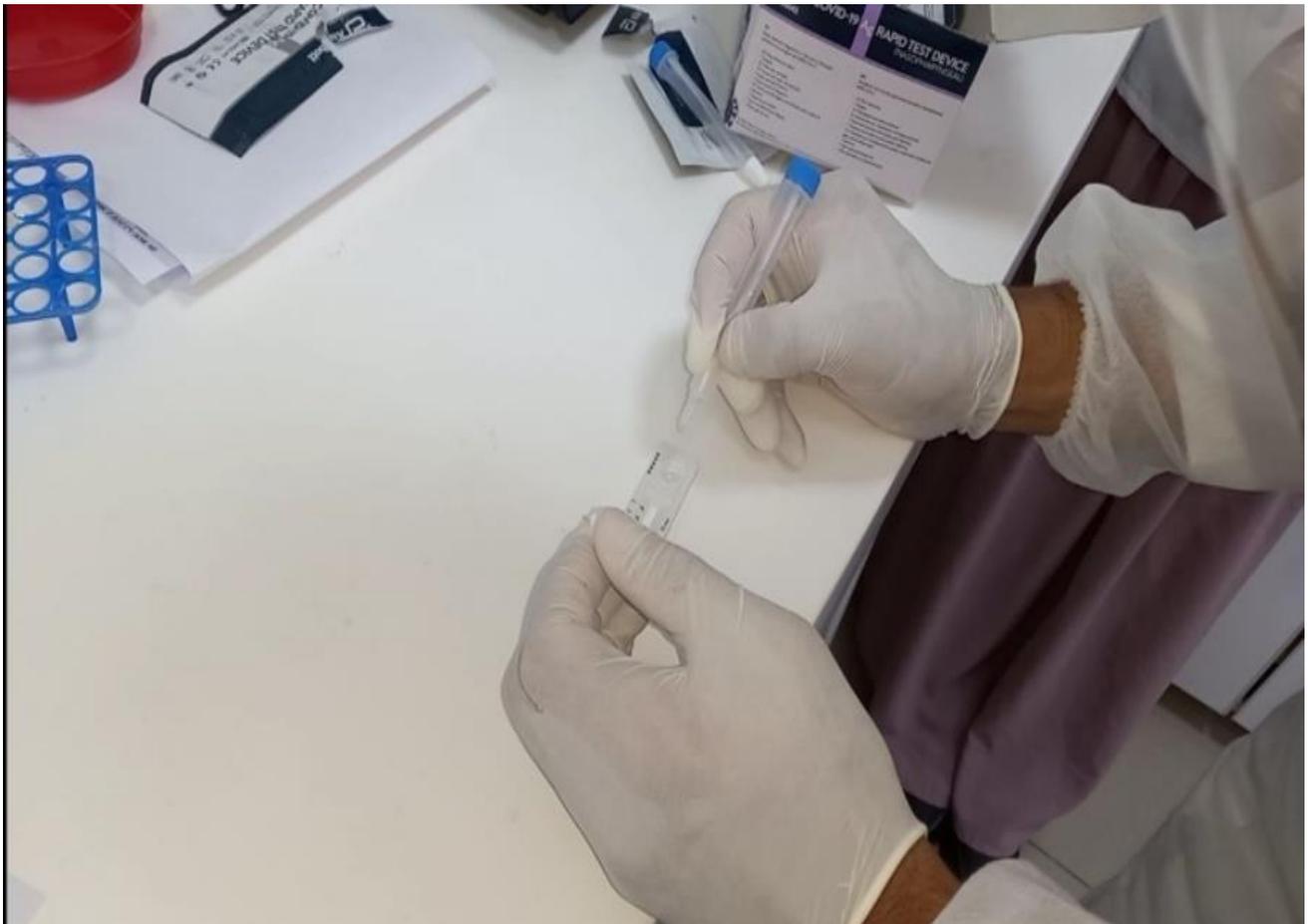
-Insérer l'échantillon sur écouvillon dans le tube d'extraction, et faire tourbillonner la pointe de l'écouvillon dans le fluide tampon à l'intérieur du tube d'extraction en poussant dans la paroi du tube d'extraction au moins cinq fois, puis faites sortir l'écouvillon en pressant le tube d'extraction avec vos doigts.

-Cassez l'écouvillon au point de rupture et fermez le capuchon du tube d'extraction.

**d) Réaction avec le dispositif de test**

- Ouvrir le capuchon de la buse à goutte au bas du tube d'extraction.
- Distribuer verticalement cinq gouttes d'échantillon extrait dans le puits d'échantillon de l'appareil.

- Ne pas manipuler ni déplacer le dispositif de test tant que le test n'est pas terminé et prêt pour la lecture.
- Fermer la buse et jeter le tube d'extraction avec l'écouvillon usagé conformément à la réglementation locale et au protocole d'élimination des déchets biologiques.
- Démarrer le minuteur, lire le résultat à 15 minutes. Ne pas lire le résultat après 20 minutes.
- L'élimination des appareils usagés se fait conformément à la réglementation locale en vigueur et selon le protocole d'élimination des déchets dangereux.



**FIGURE 19 : distribution des gouttes d'échantillon dans le puit d'échantillon d'appareil.**

**e) Ecouvillon de control Positif et Négatif :**

Les bonnes pratiques de laboratoire suggèrent l'utilisation de control positifs et négatifs pour veiller à ce que les réactifs de test fonctionnent, et que le test soit correctement effectué.

- Tenez le flacon de tampon verticalement et remplissez le tube d'extraction de liquide tampon jusqu'à la ligne de remplissage du tube d'extraction.
- Placez le tube d'extraction dans le support de tubes.
- Insérez l'écouvillon de contrôle positif ou négatif dans le liquide tampon à l'intérieur du tube d'extraction et faites tremper l'écouvillon pendant 1 minute.
- Eliminez l'écouvillon de contrôle utilisé conformément au protocole d'élimination des déchets biologique dangereux.
- Fermez le bouchon du tube d'extraction.
- Suivez la procédure du test ci-dessus « réaction avec le dispositif de test ».



**FIGURE 20 : Contrôle positif et négatif.**

**f) Le Compte rendu :**

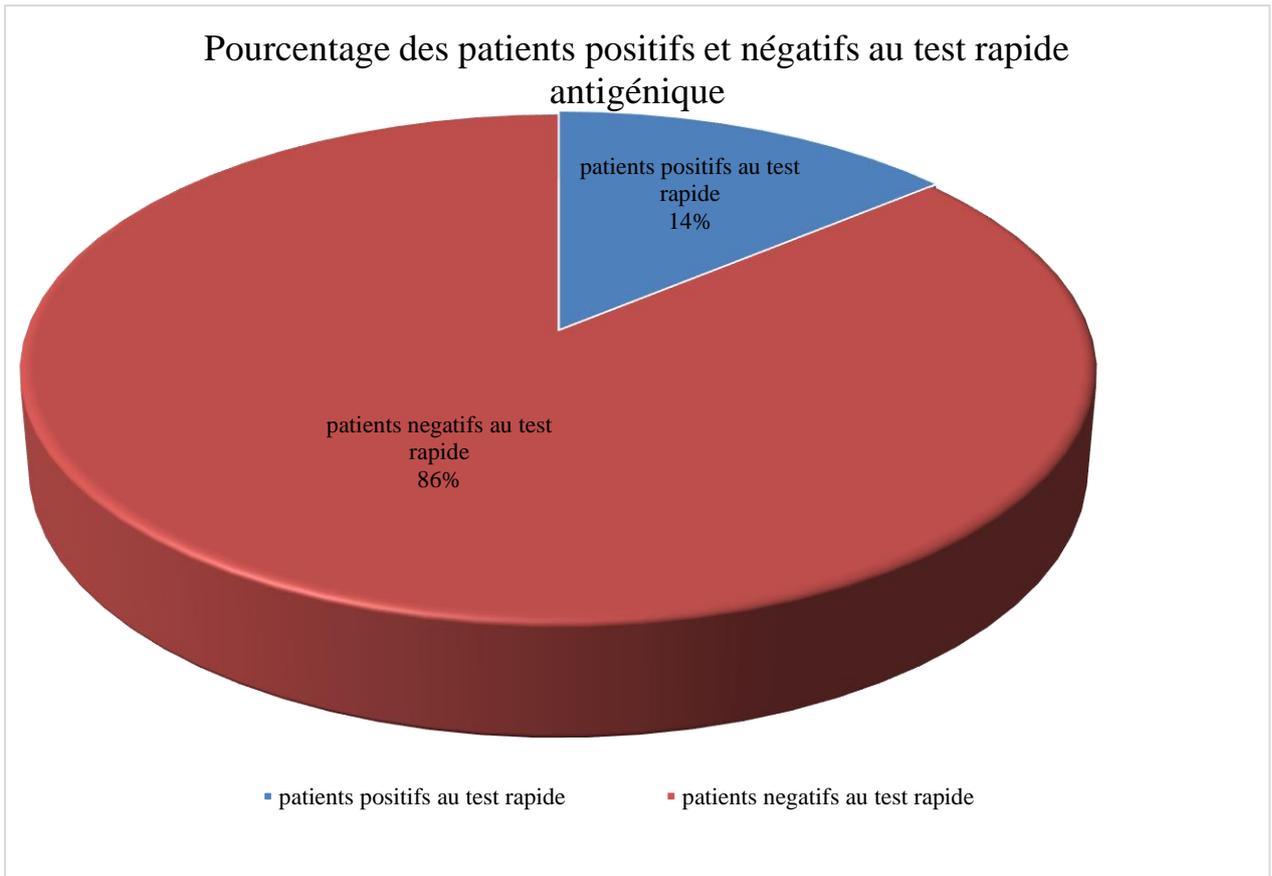
Remettre le résultat au patient, sur le compte rendu d'analyse (Annexe 11).

**B- Résultat :**

Parmi les 50 malades qui ont effectué le test, 43 étaient négatifs, représentant un pourcentage de 86%, tandis que 7 patients étaient positifs, représentant un pourcentage de 14%.  
[TABLEAU 8] [FIGURE 21].

**TABLEAU 8 : représentant le nombre des patients positif et des patients négatif au test rapide antigénique.**

Résultat	Positif	Négatif
Nombre de patients	7	43



**FIGURE 21 : Pourcentage des patients positifs et négatifs au test antigénique.**

#### **IV.2.4 Recherche du SARS COVID-19 par RT-PCR.**

- **Mode d'emploi**

Après le prélèvement nasopharyngé, l'échantillon sur écouvillon est mis dans une solution de conservation propre à la RT-PCR.



**Figure 22 : Ecouvillon nasopharyngé de la PCR.**

## **A-Extraction de l'ARN**

Les échantillons sont congelés à -20°.

### **a- Phase pré-analytique :**

- Décongélation des échantillons.
- Préparation de l'ARN carrier.

L'ARN carrier a pour rôle d'aider l'ARN à se fixer sur la colonne de silice mais également d'éviter la dégradation de l'ARN.

- Préparation de la solution de lavage.
- Ecrire le numéro de chaque patient dans la liste des extraits et PCR (Annexe 4).

### **b- Phase analytique**

#### **• La lyse**

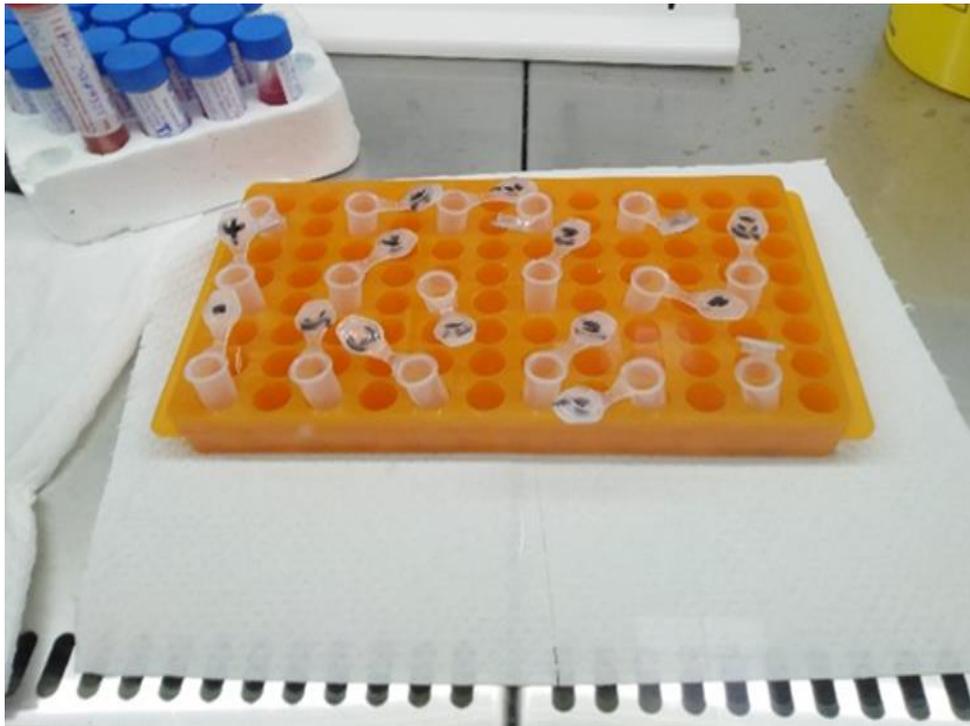
- Préparer et identifier les micro tubes de 1,5 ml pour chaque échantillon (Figure23).
- Pipeter 560ul du tampon AVL (Figure24) et les déposer dans le micro tube de 1.5 ml contenant 5.6 µl de l'ARN carrier. Ce tampon détruit les cellules dénature les protéines et inactivent les RNase et créent des liens qui permettent une bonne adsorption de l'ARN sur la colonne de silice.
- Mélanger l'échantillon sur le vortex.
- Pipeter 140 µl de l'échantillon (Figure25) et l'ajouter dans le microtube contenant l'ARN carrier et l'AVL.
- Agitation pendant 15 secondes environ sur Vortex, pour homogénéiser les réactifs et éviter la formation d'un précipité au fond du tube.
- Incuber 10 minutes à température ambiante (15-25°C).
- Centrifuger brièvement dans la centrifugeuse Minispin pour faire descendre les gouttes au fond du tube.
- Ajouter au lysat 560 µl d'éthanol (96-100%), pour ajuster les conditions de fixation de l'ARN.
- Agitation pendant 15 secondes sur le vortex.
- Centrifuger brièvement dans la centrifugeuse Minispin pour faire descendre les gouttes au fond du tube.

- **Fixation de l'ARN :**

- Délicatement, pipeter 630  $\mu$ l du lysat (il restera 630  $\mu$ l) et les transférer dans la colonne de silice, elle-même mise dans un tube collecteur de 2ml (Figure 26). La membrane de silice permettra l'absorption de l'ARN.
- Fermer le tube de 1.5 ml et la colonne, et centrifuger à 8000 rotations par minute (rpm) pendant 1 minute (Figure27).
- Après centrifugation, placer la colonne dans un nouveau tube collecteur de 2 ml et jeter celui contenant le filtrat.
- Pipeter les 630  $\mu$ l de lysat restant dans le microtube de 1.5 ml, et les déposer dans la colonne de silice.
- Fermer le tube de 1.5ml et la colonne, et centrifuger a 8000 rpm pendant 1 minute.
- Après centrifugation, placer la colonne dans un nouveau tube collecteur de 2 ml, et jeter celui contenant le filtrat.

- **Lavage et élimination des débris cellulaires :**

- Ouvrir délicatement la colonne y ajouter 500  $\mu$ l de solution de lavage, refermer et centrifuger à vitesse maximale (20 000 g ;14 000 rpm) pendant 3 minutes dans la centrifugeuse, pour éliminer les métabolites et composant macromoléculaire, contenu dans les échantillons testés.
- Après centrifugation, placer la colonne dans un nouveau tube collecteur de 2ml et jeter celui contenant le filtrat centrifuger à vitesse maximal (20000g ;14 000) pendant 1 minute pour éliminer tous les résidus de l'éthanol.
- Placer la colonne de silice dans le micro tubule libellé, et jeter le tube collecteur contenant le filtrat.
- Ouvrir délicatement la colonne y ajouter 50  $\mu$ l de l'AVL bien au centre de la colonne.
- Incuber 1 minute à température ambiante.
- Centrifuger a (6000 ;8000rpm) pendant 1 minute, dans la centrifugeuse.
- Jeter la colonne de silice et garder le microtube contenant l'extrait.
- Nettoyer correctement la hotte ainsi que le matériel utilisé.



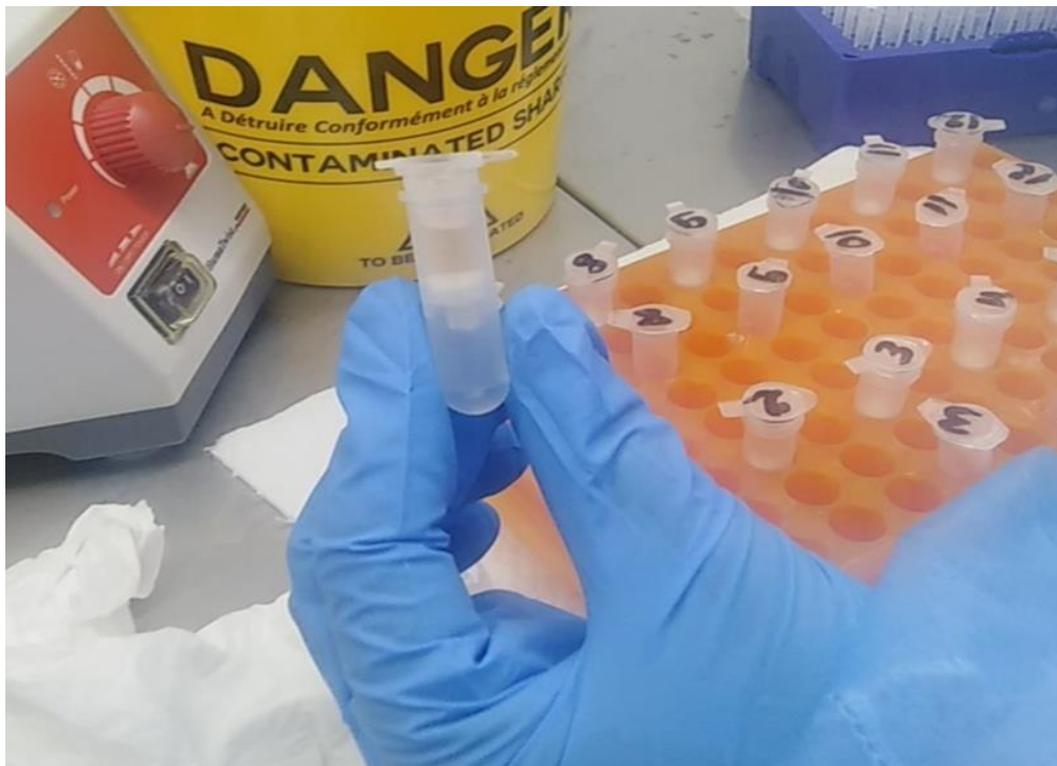
**FIGURE 23 : Identification des microtubes.**



**FIGURE 24 : Pipetage de l'AVL.**



**FIGURE 25 : Pipetage de l'échantillon.**



**FIGURE 26 : Colonne de silice mise dans le tube.**



**FIGURE 27 : Centrifugation des microtubes a 8000 rpm.**

## **B- Programmation du thermocycleur**

Le thermocycleur peut varier la température de l'échantillon de façon très précise pendant des durées différentes. Selon les indications du fabricant, il faut ajuster la température, le temps, et le nombre de cycles pour chaque étape de la RT-PCR comme suite :

- La PRE PCR 1 « la transcription inverse » : programmer la température a 42°C, la durée 15minute, le nombre de cycle a 1 cycle.
- LA PRE PCR 2 : programmer La température à 95°C, la dure à 10minute, le nombre de cycle a 1 cycle.
- La première étape de la PCR « la dénaturation » : Programmer la température a 95°C, la dure à 5 secondes.
- La deuxième étape de la PCR « l'hybridation » : Programmer la température a 60°C, et la dure a 40 secondes.
- La troisième étape de la PCR « la polymérisation » : Programmer la température à 72°C, et la durée à 3 secondes.
- Programmer le nombre de cycles de la PCR a 45 cycles.

[TABLEAU 9]

**TABLEAU 9 : Programmation du Thermocycleur.**

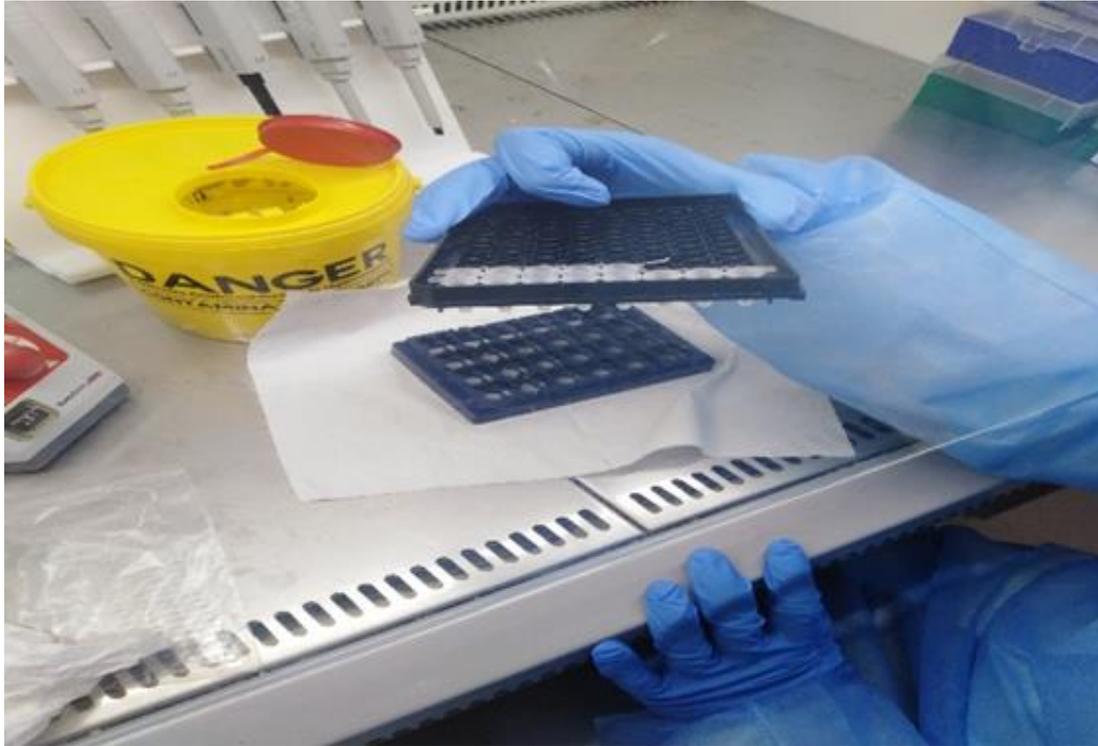
	Température	Temps	Cycle
PRE1	42 °C	15 mnt	1 *
PRE2	95 °C	10 mnt	1*
PCR	95 °C	5 s	45*
	60 °C	40 s	
	72 °C	20s	

### **C- Amplification**

- Préparer le plan selon l'ordre suivant : le témoin, les malades, le control positif, et les mentionnée dans la feuille de lecture (Annexe 5).
- Mettre les Strips dans la plaque a Strips selon le nombre des malades (Figure 28).
- Pipeter 15ul du Mastermix, et les déposé dans tous les puits.

Le master mix contient l'ADN polymérase, le tampon mgcl2 qui permet de neutraliser les charges négatives du phosphate de l'ADN, les amorces « oligonucléotides », et les désoxynucléotide triphosphate.

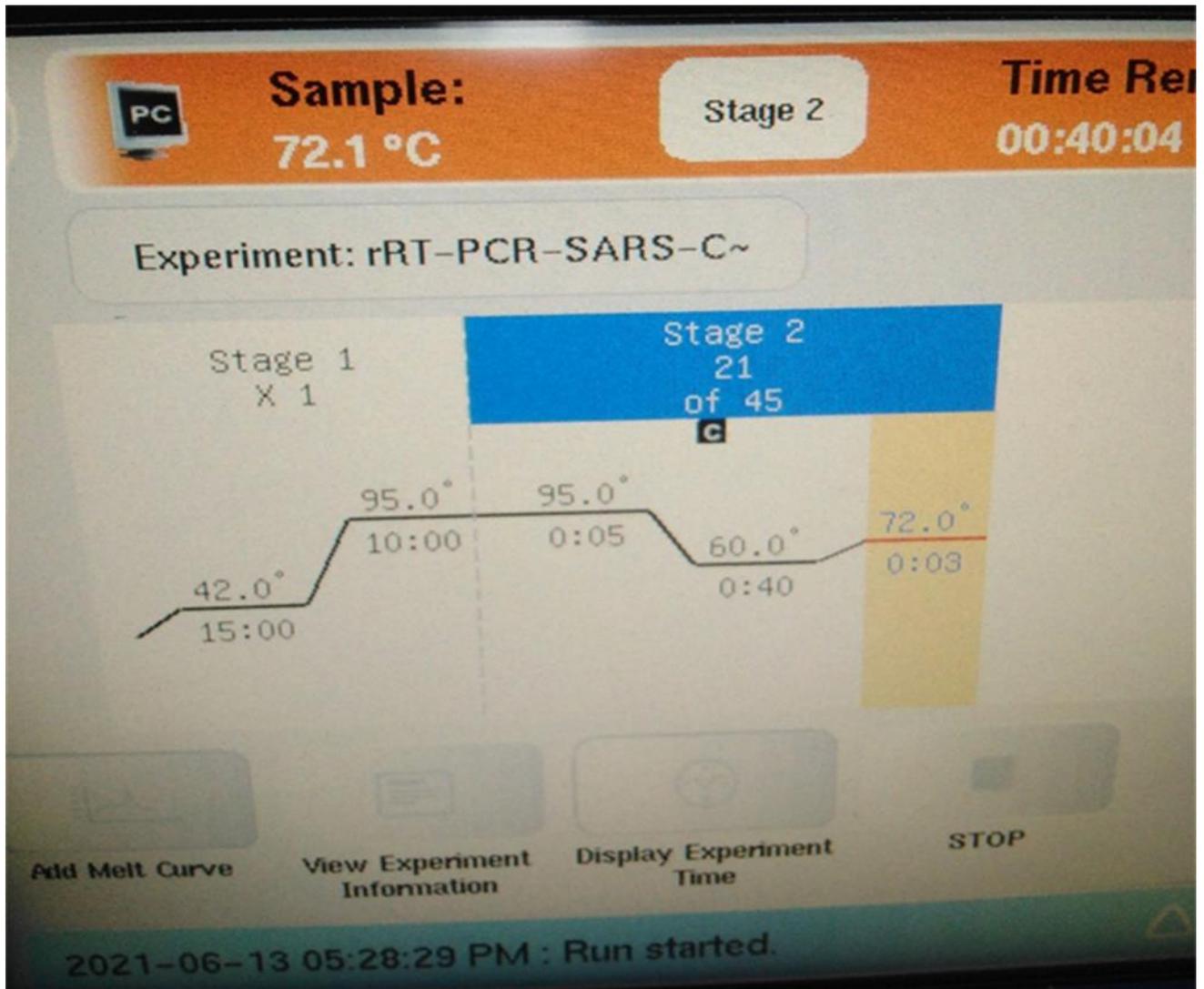
- Pipetter 10ul du témoin, de chaque extrait et du control positif, et les déposé dans leur puits correspondant contenant le Mastermix.
- Fermer les puits avec les bouchant et centrifuger.
- Mettre la plaque dans le Thermocycleur (Figure29).



**FIGURE 28 : La mise des strips dans la plaque à Strips.**



**FIGURE 29 : La mise de la plaque a strips dans le Thermocycleur.**



**FIGURE 30 : Les étapes de la RT-PCR.**

**- Explication des étapes de la RT-PCR**

**a- La transcription inverse :**

Dans cette étape l'ARN est rétro transcrit par la transcriptase inverse, une enzyme qui permet la synthèse de l'ADN complémentaire ADNc à partir de l'ARN. La température optimale à l'activité de cette enzyme est 42°C [FIGURE 30]. Cette étape est réalisée en un seul cycle (Figure30).

Ensuite, on procède à la dénaturation du complexe ARN : ADNc, en augmentant la température à 95°C pendant 10 minute (Figure30). Cette étape se réalise en un seul cycle.

## **b- La PCR :**

Dans un premier temps, l'ADN polymérase catalyse la synthèse du second brin d'ADNc en utilisant le premier brin comme matrice. Dans un deuxième temps, la PCR permet d'amplifier le fragment d'ADNc.

### **- La dénaturation :**

Dénaturer les doubles brins d'ADN complémentaire en matrice simple brin, en chauffant à une température de 95°C pendant 5 secondes (Figure30), ce qui détruit les liaisons qui relie les bases nucléotidiques entre elle.

### **- L'hybridation :**

Les amorces « oligonucléotide » vont s'associer à leur brin correspondant, « une se fixe à l'extrémité du brin sens 5' 3', et une deuxième se fixe à l'extrémité du brin anti sens 3' 5' ». La température permettant l'hybridation des amorces sur leur matrice est 60°C (Figure30).

### **- La polymérisation :**

Un nouveau brin fils va être synthétisé, à partir de l'amorce à l'aide de l'ADN polymérase, qui permettra l'élongation du nouveau brin, en utilisant les désoxynucléotide triphosphate. La température optimale à l'activité de la polymérase est 72°C (Figure30).

Les trois étapes, dénaturation, hybridation, et polymérisation sont répétées 45 fois (cycles de PCR) (Figure30), doublant à chaque cycle la quantité d'ADN. La quantité d'ADN évolue de façon exponentielle puis linéaire pour finalement atteindre un plateau.

## **D-L'analyse de données :**

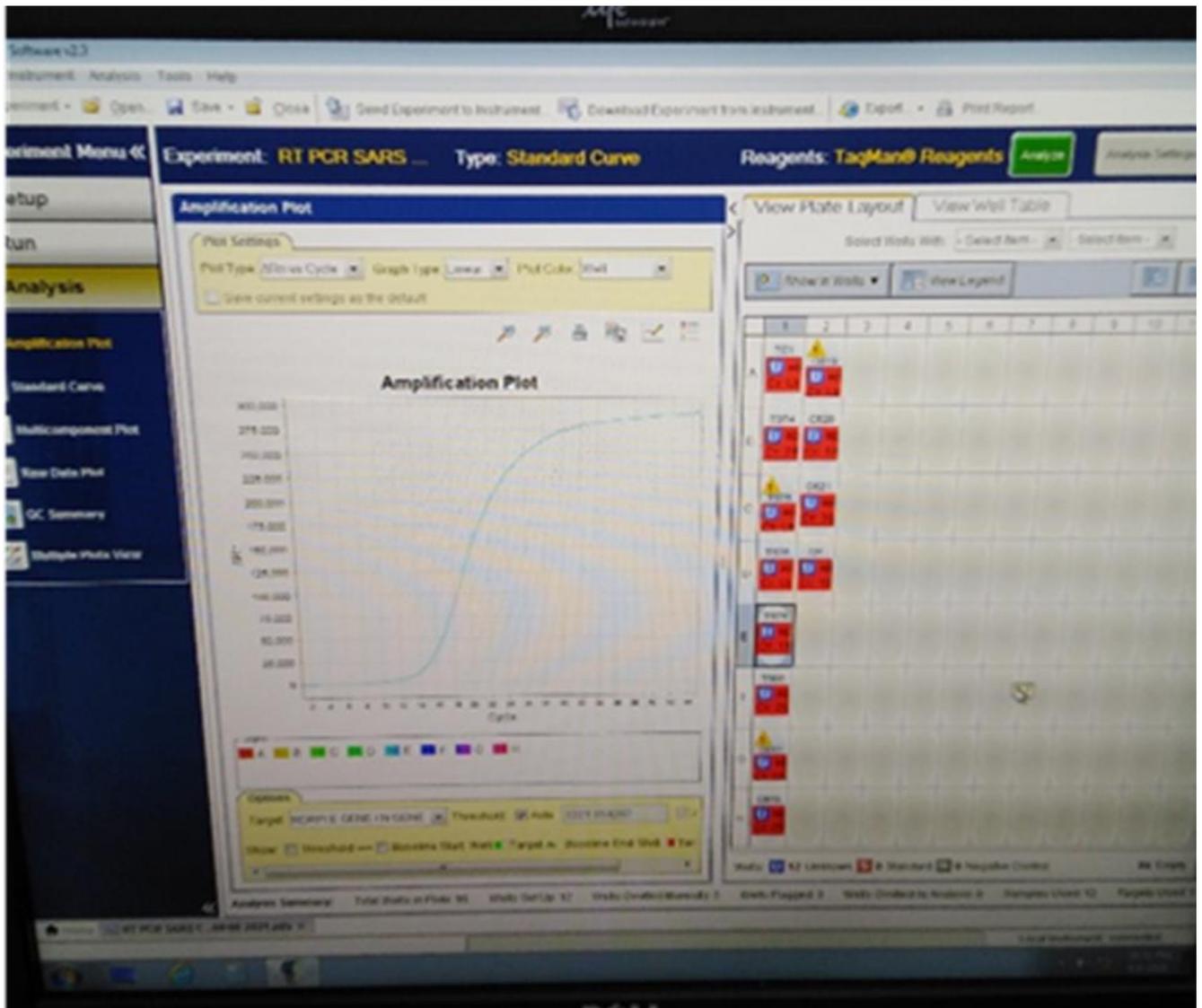
- L'intensité du signal fluorescent est détectée dans le canal : FAM
- Le signal provenant du produit d'amplification du contrôle interne est détecté dans le canal HEX.
- Le contrôle interne permet de valider le résultat.

Le résultat d'une PCR positive est représenté graphiquement sous forme d'une courbe sigmoïde. Elle représente l'intensité de la fluorescence mesurée en fonction du nombre de cycles (Figure31).

Pour déterminer la positivité d'une PCR, on détermine le nombre de cycles seuil à partir duquel la fluorescence émise est détectable.

Le cycle seuil ou Ct (Cycle threshold) est défini par le nombre de cycles de la PCR requis pour atteindre un signal d'émission de fluorescence plus élevé que le bruit de fond. Il est d'autant plus petit que la matrice initiale à amplifier est abondante. Il apparaît toujours au cours de la phase exponentielle de la PCR. Le Ct est égal à 30 cycles.

Le bruit de fond est un signal de faible intensité présent dans l'essai, que la cible soit présente ou non.



**FIGURE 31 : Courbe d'échantillon positif.**

## **E- Archivage**

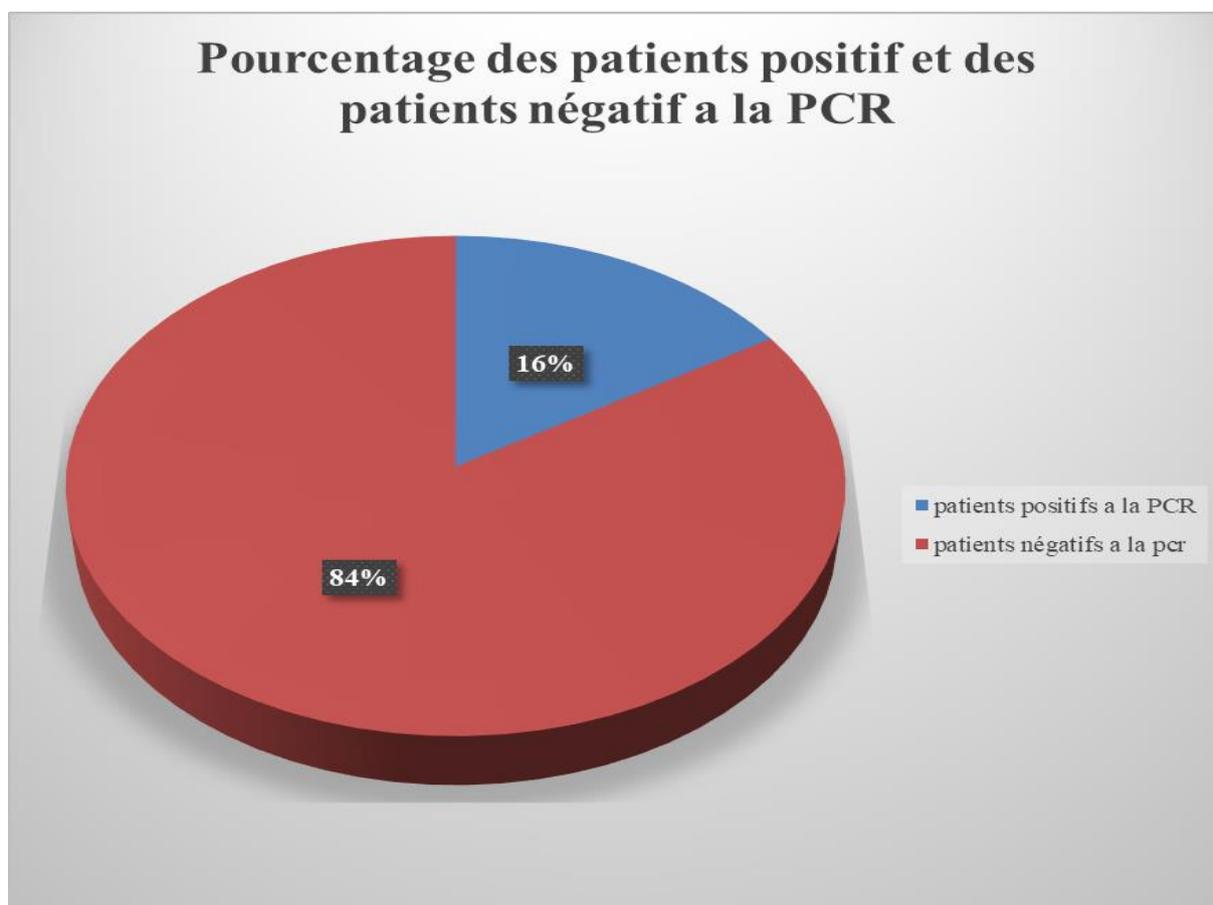
Archivé les résultats dans la plateforme suivante : <https://covid.bmlabserver.com/>.

- **Résultat de la RT-PCR :**

Parmi les 50 patient, 42 étaient négatifs à la PCR, représentant un pourcentage de 84%. Tandis que 8 patients étaient positifs à la PCR, représentant un pourcentage de 16%. [TABLEAU 10] [FIGURE 32]

**TABLEAU 10 : Le nombre des patients positif et des patients négatifs à la PCR.**

Résultat de la PCR	Positif	Négatif
Nombre de patients	8	42



**FIGURE 32 : Pourcentage des patients positif et des patients négatifs à la PCR.**

### III.2.5 Résultat Global et calculs

Le TABLEAU 11 regroupe les résultats acquis des 2 méthodes [Test rapide + RT-PCR].

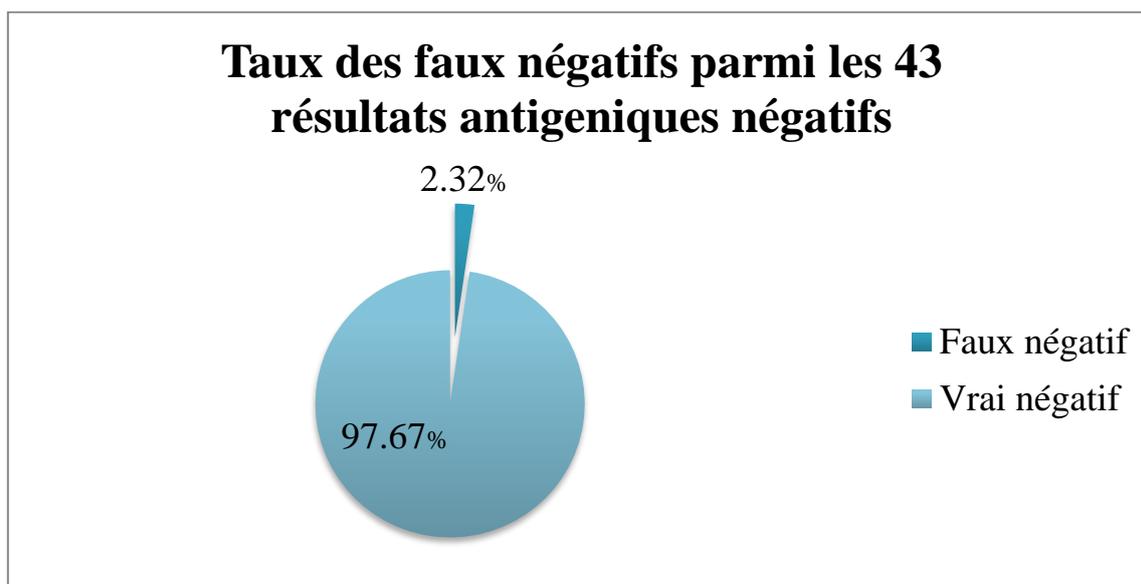
**TABLEAU 11 : Résultat des tests Panbio COVID-19 Ag rapid et de la RT-PCR.**

		Résultats du Test RT- PCR		
		Positif	Négatif	Total
Resultats du Panbio COVID-19 Ag Rapid test device	Positif	7	0	7
	Négatif	1	42	43
	Total	8	42	50

Les échantillons cliniques ont été jugés vraiment positifs ou négatifs en utilisant la méthode de référence RT-PCR.

Sur l'ensemble des tests rapides lancés :

- Le taux de positivité était 14%, avec 0 faux positifs.
- Alors que 86% sont revenus négatifs dont 2.32% ont été prouvés faux négatifs *Ainsi vérifiés par RT-PCR étant la technique de référence pour le dépistage du COVID-19 pour cette étude* [FIGURE 33].



**FIGURE 33 : Taux des faux négatifs parmi les 43 résultats antigeniques négatifs au COVID19.**

$Se = \frac{VP}{VP + FN}$	$sp = \frac{VN}{FP + VN}$
$VPP = \frac{VP}{VP + FP}$	$VPN = \frac{VN}{FN + VN}$
<p>Se : Sensibilité</p> <p>sp : Spécificité</p> <p>VPP : Valeur Prédictive Positive</p> <p>VPN : Valeur Prédictive Négative</p>	

**FIGURE 34 : Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et négatives d'un test.**

(VP : vrai positif, FP : faux positif, VN : vrai négatif, FN : faux négatif.)

Selon la **FIGURE 34** on a calculé la sensibilité et la spécificité du test antigénique utilisé et on est parvenu aux résultats suivants :

- ↳ • Sensibilité du test = 87.5%.
- Spécificité du test = 100%.

Selon la **FIGURE 34** on a aussi calculé les valeurs prédictives positives et négatives respectivement et on est parvenu aux résultats suivants :

- ↳ • VPP = 100%.
- VPN = 97.6%.

#### Index de Youden J :

La statistique **J** de Youden est une statistique qui permet de déterminer les performances d'un test de diagnostic, et statué sur son efficacité. Il varie de -1 à +1. Lorsque **J** est négatif le test est inefficace, lorsque  $J = 0$  le test n'a aucune valeur diagnostique, et lorsque **J** se rapproche du 1 le test est efficace.

L'index de Youden est calculé selon la formule suivante :

$$J = (\text{Spécificité} + \text{Sensibilité}) - 1.$$

- ↳ -  $J = (1 + 0.875) - 1.$
- $J = 0.88.$

- Le Pourcentage concordance globale :

La concordance globale est calculée selon la formule suivante :

$$(VP+VN) * 100 / (VP + FP + FN + VN)$$

→ - Le pourcentage concordance globale est de 98%.

Le TABLEAU 12 résume les valeurs des différents paramètres de performance analytique du test « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » calculés ci-dessus et utilisés pour son évaluation éventuelle.

**Tableau 12 : Résumé des paramètres de performances analytiques du Test Rapide PANBIO calculés.**

Paramètres	Sensibilité	Spécificité	Valeur Prédictive Positive	Valeur Prédictive Négative	Indice de Youden J	Pourcentage de Concordance Global
Valeurs	87.5%	100%	100%	97.6%	0.88	98%

#### Commentaire

Il est important de noter que les estimations statistiques disponibles actuellement et dont nous allons discuter pour notre test sont limitées, car elles portent sur des échantillons relativement limités, et les études épidémiologiques à grande échelle jusqu'à présent font défaut, dans le monde entier vu le caractère émergent et très récent du virus.

#### **IV.2.6 Discussion**

Selon les résultats acquis de notre étude on constate que :

- Par rapport au test lui-même :
  1. En termes de sensibilité, le fabricant du test, laboratoire ABBOT, a mené la même évaluation, et les performances du Test « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » ont révélé des résultats qui ont montré une sensibilité de 91.4% [85.5% ; 95.5%].

Concernant notre étude, le test « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » a donné de très bonnes performances et a donné une assez bonne sensibilité globale, il a été utilisé sur 50 échantillons dont les résultats étaient comme suit :

- 7 échantillons, soit 14% testés positif par RT-PCR et TDR.
- 42 échantillons, soit 86% testés négatif par les deux méthodes.
- Des résultats discordants (RT-PCR+/TDR-) ont été obtenus chez 1 patient, soit 2 %.

En prenant la RT-PCR comme référence, la sensibilité retrouvée du test « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » était à l'ordre de 87.5%. Cette valeur est légèrement

inférieure à celle démontrée dans l'étude suscitée, mais incluse dans l'intervalle de confiance mentionné par le fabricant, compris entre 85.5 et 95.5 %.

En outre, dans un article publié par Klinger Soares Faico-Filho et Al. « *Evaluation of the Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test at an Emergency Room in a Hospital in São Paulo, Brazil* » en Mars 2021 d'une étude à l'hôpital de São Paulo en Brésil, Evaluant le même test étudié dans notre travail. L'étude a été effectuée sur 127 échantillons et les performances du Test « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » ont été évaluées et les résultats ont montré une sensibilité de 84% [113].

Une 2<sup>ème</sup> étude prospective similaire a été réalisée par Eliseo Albert et Al. Dans des centres de soins de santé primaires en Espagne publié en Mars 2021 dans l'issue 3 du journal « *Clinical Microbiology and Infection* » intitulé « *Field evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device) for COVID-19 diagnosis in primary healthcare centres* ». Pour le même test « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » l'étude menée sur 412 échantillons a révélé une sensibilité de 79.6% [114].

Les valeurs de sensibilité retrouvée par l'étude de Klinger Soares Faico-Filho et Al ainsi que par l'étude d'Eliseo Albert et Al sont inférieurs à celle retrouvée dans notre étude. Ces chiffres sont moins impressionnants que ne le prétend le fabricant (91.4%). En tous cas, il est possible que le panel d'échantillons évalué par le fabricant puisse avoir inclus une grande partie de spécimens présentant des charges virales élevées.

2. En termes de spécificité, le test « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » dans notre étude a disposé d'une excellente spécificité de 100 %. L'étude réalisée en Espagne par Eliseo Albert et Al. « *Field evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device) for COVID-19 diagnosis in primary healthcare centres* » a révélé le même résultat qui est une spécificité parfaite de 100%. [114] cette valeur est incluse dans l'intervalle de confiance mentionnée par le fournisseur du test rapide « *Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device* », qui est compris entre 98.8% et 100%. Alors que dans l'étude réalisée par Klinger Soares Faico-Filho et Al la spécificité du test rapide retrouvée était de l'ordre de 98%. Cette valeur est inférieure à celle retrouvée par notre étude.

Dans l'étude publiée par le fabricant, la spécificité du test « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » était de 99.8% [98.8% ; 100%] [113], la spécificité retrouvée par notre étude est supérieure à cette valeur néanmoins incluse dans son intervalle de confiance.

3. Selon la prévalence de la maladie du COVID-19 dans notre population pendant la période de notre étude, la valeur prédictive positive était de l'ordre de 100%. Donc d'après la définition de la valeur prédictive positive mentionnée dans le chapitre 1 de ce document, *la proportion de personnes réellement malades parmi celles qui ont un test positif est de 100%*.

Selon la prévalence de la maladie du COVID-19 dans notre population pendant la période de notre étude, la valeur prédictive négative retrouvée était de l'ordre de 97.6%. Donc d'après la définition de la valeur prédictive négative mentionnée dans le chapitre 1 *la proportion de personnes réellement saines parmi celles ayant un test négatif est de 97.6%*.

4. L'index de Youden calculé à partir de la sensibilité est la spécificité annoncée par le fabricant, était de l'ordre de 0.912, cette valeur se rapproche de 1. Selon cet index, le test rapide antigénique Panbio est efficace, et a une valeur diagnostique dans le dépistage du COVID-19. La statistique J de l'index de Youden déduit par notre étude est de l'ordre de 0.88 cette valeur est légèrement inférieure à celle retrouvée par le fabricant. *Elle confirme que le test rapide antigénique Panbio est efficace, et a une valeur diagnostique dans le dépistage du COVID-19.*

- Par rapport à la concordance des résultats du test rapide avec la RT-PCR :
  1. Dans l'étude menée par le fabricant ABBOT le pourcentage de la concordance globale du test « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » était de l'ordre de 97.8%. Selon notre étude, Le pourcentage de concordance globale, est de l'ordre de 98%. Cette valeur est légèrement supérieure à celle retrouvée par l'étude du fabricant, mais incluse dans l'intervalle de confiance mentionnée par ce dernier qui est compris entre 96.2% et 98.8%. Dans les études de Klinger Soares Faico-Filho et Al ainsi de Eliseo Albert et Al, les pourcentages de concordance globaux étaient de 97% et 95% respectivement, ces deux valeurs, malgré qu'elles soient légèrement inférieures de celle du fabricant néanmoins sont proches de la valeur et intervalle de confiance annoncés. *Ces pourcentages nous indiquent et confirment que les résultats du test rapide antigénique « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » présente une bonne concordance à ceux de la RT-PCR.*

#### **IV.2.7 contraintes**

- Une durée courte pour une étude d'aussi grande importance.
- Manque de malades pour à qui les deux tests ont été demandés.
- Rupture en dispositifs de détection et réactifs.
- Nombre des malades très réduit pour obtenir une meilleure discussion.

# **CONCLUSION**

## Conclusion

A travers ce travail, on conclue que les tests rapides occupent une place importante dans le diagnostic du COVID-19. Même si leurs performances pourraient être légèrement inférieures aux tests de référence, ils sont indispensables pour une meilleure gestion de la pandémie qu'on vit en ces moments en Algérie et dans le monde entier.

Le test antigénique tel que le test par RT-PCR permettent un diagnostic immédiat du COVID-19 en détectant la présence du virus dans l'organisme. Mais le test antigénique recherche les protéines produites par le virus Sars-CoV-2 tandis que le test RT-PCR recherche le génome du virus SARS-CoV-2

Grace à leur rapidité et leur impact positif potentiel sur les délais de réalisation, le recours aux tests antigéniques peut être proposé dans le cadre de diagnostic ambulatoire d'infection au SARS-CoV-2 et ceci permettrait ainsi d'avoir un impact en santé publique intéressant en améliorant la précocité du dépistage.

D'autre part, il apparait pertinent d'intégrer les tests antigéniques sur prélèvement nasopharyngé réalisés sous forme de test unitaire rapide dans la stratégie de prise en charge diagnostique des patients symptomatiques dans les sept jours après apparition des symptômes, ou ceux suspectés d'être infectés vu que les résultats du test rapide antigénique présentent une bonne performance analytique, et une bonne concordance aux résultats de ceux de la RT-PCR.

Il est à noter que la prescription du test de diagnostic rapide ne doit le plus souvent pas être conçue pour éliminer ou affirmer un diagnostic, mais pour corroborer ou rendre moins probable une hypothèse diagnostique. L'apport du résultat d'un test de diagnostic rapide est interprété en fonction de la clinique, la période de contamination et si possible de la détermination d'une probabilité prétest fonction de la prévalence de la maladie dans une population spécifique.

Selon l'Haute Autorité de Santé, les tests antigéniques présentent une perte de sensibilité par rapport au test RT-PCR sur prélèvement nasopharyngé, qui est considéré comme le test de référence. Cette perte de sensibilité pourrait être acceptable si une valeur seuil de sensibilité minimale était déterminée afin de discriminer entre les tests pertinents et non pertinents pour un usage fiable en situation de diagnostic. Cette dernière est néanmoins très variable, d'où la nécessité de confirmation par RT-PCR chez les patients suspects [117].

Il est important de savoir que la sensibilité des tests antigéniques rapides SARS-CoV-2 en général varie entre 45 % et 97 % [115, 116], mais la comparaison entre les études est entravée par des dissemblances marquées dans les caractéristiques cliniques et l'âge du patient, les sites de dépistage, le type des échantillons traité, et temps du dépistage, entre autres.

Toutefois, pour des tests présentant des spécificités non satisfaisantes (en raison notamment de réactions faussement positives induite par des virus hivernaux) l'introduction d'une valeur seuil de spécificité minimale paraît également nécessaire [117].

Bien que la RT-PCR présente généralement une sensibilité et une spécificité plus élevées pour détecter l'infection, la sensibilité diminue au fil du temps après l'apparition des symptômes. En outre, alors qu'elle peut servir à diagnostiquer une infection en cours, elle ne peut pas indiquer si une personne a déjà été infectée par le SARS-CoV-2.

Contrairement à la RT-PCR, qui détecte l'acide nucléique viral, les tests sérologiques mesurent la réponse anticorps au virus de l'hôte. Vu qu'ils utilisent un antigène pour lier et détecter les anticorps propres à cet antigène dans un échantillon biologique.

Donc il est révélé important d'utiliser les tests rapides sérologique à titre populationnel au sein d'enquêtes séro-épidémiologiques dans le cadre de la surveillance de la pandémie du COVID-19, Il conviendra également de positionner les tests sérologiques rapides vis-à-vis des tests automatisables (ELISA) dans la stratégie de prise en charge, et les prescrire dans le cadre d'orientation diagnostique de COVID-19.

Il était difficile de menée une évaluation séparée sur les tests rapides sérologiques pour plusieurs raisons, mais principalement dû à la réduction de leur usage en Algérie et l'arrêt de leur importation en vue d'encourager leur production locale, mais malheureusement même celle-ci a été largement réduite et limitée à des quantités dédiées uniquement aux activités des sociétés.

Enfin, l'utilisation des tests rapides a contribué à la gestion de cette Pandémie notamment dans le contexte de manque des tests de biologie moléculaire, et de leurs couts élevés. Les experts de santé publique à l'échelle internationale, s'entendent sur le fait que des tests de diagnostic rapide occupent une place indispensable dans la lutte contre le COVID-19, et encouragent l'investissement dans la recherche pour trouver des tests encore plus performants afin de garantir une meilleure qualité de dépistage et de management de la pandémie.

### **Recommandations :**

Avec les constants efforts effectués pour la lutte contre la pandémie du COVID-19, pleins d'idées innovatrices sont en train de naître sous nos yeux, l'une étant l'utilisation de nouveaux tests de diagnostic rapide sérologiques IgG spécifiques pour la surveillance de la réponse immunitaire post-vaccinal, et la durée de la protection vaccinale. Une étape à contempler et qu'on aimera voir incluse dans la campagne vaccinale du COVID-19 en Algérie, il est sur que ça va permettre une meilleure gestion et surveillance des états cliniques des citoyens algériens et la situation épidémiques en général.

Le lancement dans la fabrication de tels tests devra aussi être encouragé, certains laboratoires algériens ont déjà de l'expérience dans la fabrication de tests rapides, on aimera les inciter à continuer leurs efforts afin d'aider le pays à affronter cette situation main à main sans avoir recourt à l'importation.

## **BIBLIOGRAPHIE:**

- 1- O'Farrell B. Evolution in Lateral Flow–Based Immunoassay Systems. Lateral Flow Immunoassay. 2008;1-33. Published 2008 Oct 31. doi:10.1007/978-1-59745-240-3\_1
- 2- Megerlin F, Dahan M, Lhoste F. Diffusion des Tests de Diagnostic Rapide et organisation des soins de premier recours. Quelles conséquences ? A propos du TDR angine. Med & Droit 2012 ; 113 :42-8.
- 3- Loi n° 18-11 du 18 Chaoual 1439 correspondant au 2 juillet 2018 relative à la santé. JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 46, 16 Dhou El Kaâda 1439, 29 juillet 2018, page 20
- 4- DÉCISION DE LA COMMISSION du 27 novembre 2009 modifiant la décision 2002/364/CE portant spécifications techniques communes des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro // 4.12.2009 Journal officiel de l'Union européenne L 318/25
- 5- <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/simple-rapid-tests> publié le 27 June 2014 et consulté le 08 June 2021
- 6- Fiche pédagogique, COVID19 : prérequis sur les tests ; haute autorité de santé 18.mai.2020
- 7- <https://www.cerballiance.fr/fr/blog/actualites/le-test-antigenique-covid-19> consulté le 08 June 2021
- 8- Djoudi Ouarda . Bensaid Kahina . Bouhala Azza . Gassi Meriam . Allam Ines . Belaid Brahim . Berkane Ismahane . Berkani Lilya Meriem . Kheddouci Lilya . Lamara Mahammed Lydia . Lazli Nozha Zhor . Merrah Fatma . Sayeh Wafa . Djidjik Reda . Tests Rapides Dans L'infection Covid-19 : Expérience Du Service D'immunologie De Chu De Benimessous , JOURNAL ALGÉRIEN DE PHARMACIE Volume 3, Numéro 1, Pages 86-89, Article reçu le 23-06-2020; accepté le 28-06-2020,
- 9- institue pasteur d'algerie LES TESTS POUR LE DIAGNOSTIC DES INFECTIONS PAR LE SARS-COV-2 <https://www.pasteur.fr/fr/espace-presse/documents-presse/tests-diagnostic-infections-sars-cov-2> Diffusion initiale le 17 avril 2020 - Mise à jour le 10/12/2020, consulté le six.03.2021
- 10- haute autorite de sante synthese : Cahier des charges définissant les modalités d'évaluation des performances des tests sérologiques détectant les anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2 Validée par le Collège le 16 avril 2020
- 11- Doléans A, Guillot B, Issabre Y, Freney J. Les tests rapides en bactériologie. Ann Biol Clin 2003 ; 61: 379-92.
- 12- Hicks JM, Haeckel R, Price CP. Recommendations and opinions for the use of point-of-care testing for hospitals and primary care: summary of a 1999 symposium. Clin Chim Acta 2001 ; 303 : 1-17.
- 13- P.J. Bousquet, J.P. Daures , P. Demoly , Principes, caractéristiques et interprétation des tests de diagnostic et de dépistage, Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique Volume 45, Issue 4, June 2005, Pages 314-319
- 14- Collège des enseignants d'immunologie (Assim), Méthodes en immunologie Des principes aux bonnes applications, 2014 Elsevier Masson SAS, Chapitre 1, pages 4-14

- 15- Collège des enseignants d'immunologie (Assim), Méthodes en immunologie Des principes aux bonnes applications, 2014 Elsevier Masson SAS, Chapitre 2, pages 15-23
- 16- Noémie Gensous, Delphine Turpin, Dorothée Duluc, Cécile Contin-Bordes, Patrick Blanco, SA.1 - Genèse des anticorps, Revue du Rhumatisme, Volume 83, Supplement 1, 2016, Pages A27-A32
- 17- Talal Al Saatia , Pierre Brousseta, ; Données récentes sur la production d'anticorps monoclonaux à visée diagnostique en histopathologie , article reçu le 14 septembre, accepté le 26 septembre 2009. © 2009 – Elsevier Masson SAS
- 18- Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975;256:495-7.
- 19- McCafferty J, Griffiths AD, Winter G, Chiswell DJ. Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains. Nature 1990;348, 552-4.
- 20- Collège des enseignants d'immunologie (Assim), Méthodes en immunologie Des principes aux bonnes applications, 2014 Elsevier Masson SAS, Chapitre 3, pages 25-39
- 21- Les tests de diagnostic rapide des viroses respiratoires et des gastroentérites virales : intérêts et limites ; Michel Segondya, article reçu le 21 janvier, accepté le 2 mars 2015 © 2015 – Elsevier Masson SAS
- 22- Doléans A, Guillot B, Issabre Y, Freney J. Les tests rapides en bactériologie. Ann Biol Clin 2003 ; 61: 379-92.
- 23- Kurt B, Kurtz M, Roe M. Importance of inoculum size and sampling effect in rapid antigen detection for diagnosis of Streptococcus pyogenes pharyngitis. J Clin Microbiol 2000 ; 39 : 1855-58
- 24- Collège des enseignants d'immunologie (Assim), Méthodes en immunologie Des principes aux bonnes applications, 2014 Elsevier Masson SAS, Chapitre 4, pages 41-74
- 25- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV).Taxonomy. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> accessed 01/05/2021
- 26- Mourez T, Burrell S, Boutolleau D, Pillet S. Traité de virologie médicale. Paris: Société française de microbiologie; 2019. 793 p
- 27- Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med 2020;382(8):727–33
- 28- Yin Y, Wunderink RG. MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. Respirology 2018;23:130–7. Aspects virologiques et diagnostic du coronavirus SARS-CoV-2 © 2020 Publié par Elsevier Masson SAS <http://dx.doi.org/10.1016/j.actpha.2020.08.005>
- 29- Wu A, Peng Y, Huang B, et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. Cell Host Microbe 2020;27(3):325–8.
- 30- Ren L-L, Wang Y-M, Wu Z-Q, Xiang Z-C, Guo L, Xu T, et al. Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. Chin Med J (Engl) 2020;133(9):1015–24.
- 31- Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. Nature 2020;579:259–65

- 32- Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020;579(7798):270–3
- 33- de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2016;14:523–34.
- 34- Zhang T, Wu Q, Zhang Z. Probable pangolin origin of SARS-CoV-2 associated with the COVID-19 outbreak. *Curr Biol* 2020;30:1346–51.
- 35- Lam, T.T.Y., Jia, N., Zhang, YW. et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature* 583, 282–285 (2020).  
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2169-0>
- 36- Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh C-L, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 2020;367:1260–3.
- 37- Wang Q, Zhang Y, Wu L, Niu S, Song C, Zhang Z, et al. Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2. Published: April 09, 2020, DOI : <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.045>
- 38- Xiao K, Zhai J, Feng Y, Zhou N, Zhang X, Zou J-J, et al. Isolation of SARS-CoV-2-Related coronavirus from Malayan pangolins. *Nature*. 2020 Jul;583(7815):286-289. doi: 10.1038/s41586-020-2313-x
- 39- Tang X, Wu C, Li X, Song Y, Yao X, Wu X, et al. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review*, Volume 7, Issue 6, June 2020, Pages 1012–1023, <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa036>
- 40- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395:497–506.
- 41- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395:497–506.
- 42- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Taxonomy. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>.
- 43- Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh C-L, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* 2020;367:1260–3
- 44- Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 2020;579:259–65.
- 45- Hulo C, de Castro E, Masson P, et al. ViralZone: a knowledge resource to understand virus diversity. *Nucleic Acids Res* 2011;39(Database issue):D576–82
- 46- COVID-19 : physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages COVID-19: Pathogenesis of a multi-faceted disease V. Bonny, A. Maillard, C. Mousseaux, L. Plac, A. D., Q. Richier, e,\*, 1 La Revue de médecine interne 41 (2020) 375–389.
- 47- Mourez T, Burrel S, Boutolleau D, Pillet S. *Traité de virologie médicale*. Paris: Société française de microbiologie; 2019. 793 p.
- 48- Ye ZW, Yuan S, Yuen KS, et al. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int J Biol Sci* 2020;16(10):1686–97.

- 49- Jamai Amir, Imane et al. “Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. Service de bactériologie, laboratoire centrale d’analyses médicales, CHU Hassan II, Fès, Maroc ” *Option/Bio* vol. 31,619 (2020): 15–20. doi:10.1016/S0992-5945(20)30178-1
- 50- Xia S, Zhu Y, Liu Met al. Fusion mechanism of 2019nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein. *Cell Mol Immunol*. 2020:1-3.
- 51- Yu F, Du L, Ojcius DM et al. Measures for diagnosing and treating infections by a novel coronavirus responsible for a pneumonia outbreak originating in Wuhan, China. *Microbes Infect* 2020;22(2):74-9.
- 52- Wang X, Xu W, Hu G, Xia S, Sun Z, Liu Z, et al. SARS-CoV-2 infects T lymphocytes through its spike protein-mediated membrane fusion. *Cell Mol Immunol* 2020:1–3.
- 53- de Wilde AH, Snijder EJ, Kikkert M, van Hemert MJ. Host factors in coronavirus replication. *Curr Top Microbiol Immunol* 2018;419:1–42.
- 54- Rao S, Lau A, So H-C. Exploring diseases/traits and blood proteins causally related to expression of ACE2, the putative receptor of 2019-nCoV: a Mendelian randomization analysis. 2020 Jul;43(7):1416-1426.
- 55- Ciaglia E, Vecchione C, Puca AA. COVID-19 infection and circulating ACE2 levels: protective role in women and children. *Front Pediatr* 2020:8.
- 56- Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19. *Viruses* 2020;12:372.
- 57- Lescure F-X, Bouadma L, Nguyen D et al. Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. *Lancet Infect Dis* 2020 Jun;20(6):697-706. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30200-0
- 58- van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med* 2020;382(16):1564–7.
- 59- Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. April 30, 2020 *N Engl J Med* 2020; 382:1708-1720 DOI: 10.1056/NEJMoa2002032
- 60- Wang D, Hu B, Hu C, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323(11):1061–1069. doi:10.1001/jama.2020.1585
- 61- Wu, Chaomin et al. “Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China.” *JAMA internal medicine* vol. 180,7 (2020): 934-943. doi:10.1001/jamainternmed.2020.0994
- 62- Publie par l’Organisation mondiale de la santé <https://www.who.int/fr/news-room/q-a-detail/coronavirus-disease-covid-19> accessed on 01/05/2021 accessed 01/05/2021
- 63- Desvaux, Édouard, and Jean-François Faucher. “Covid-19 : aspects cliniques et principaux éléments de prise en charge” [Covid-19: clinical aspects and management]. *Revue francophone des laboratoires : RFL* vol. 2020,526 (2020): 40-47. doi:10.1016/S1773-035X(20)30312-9

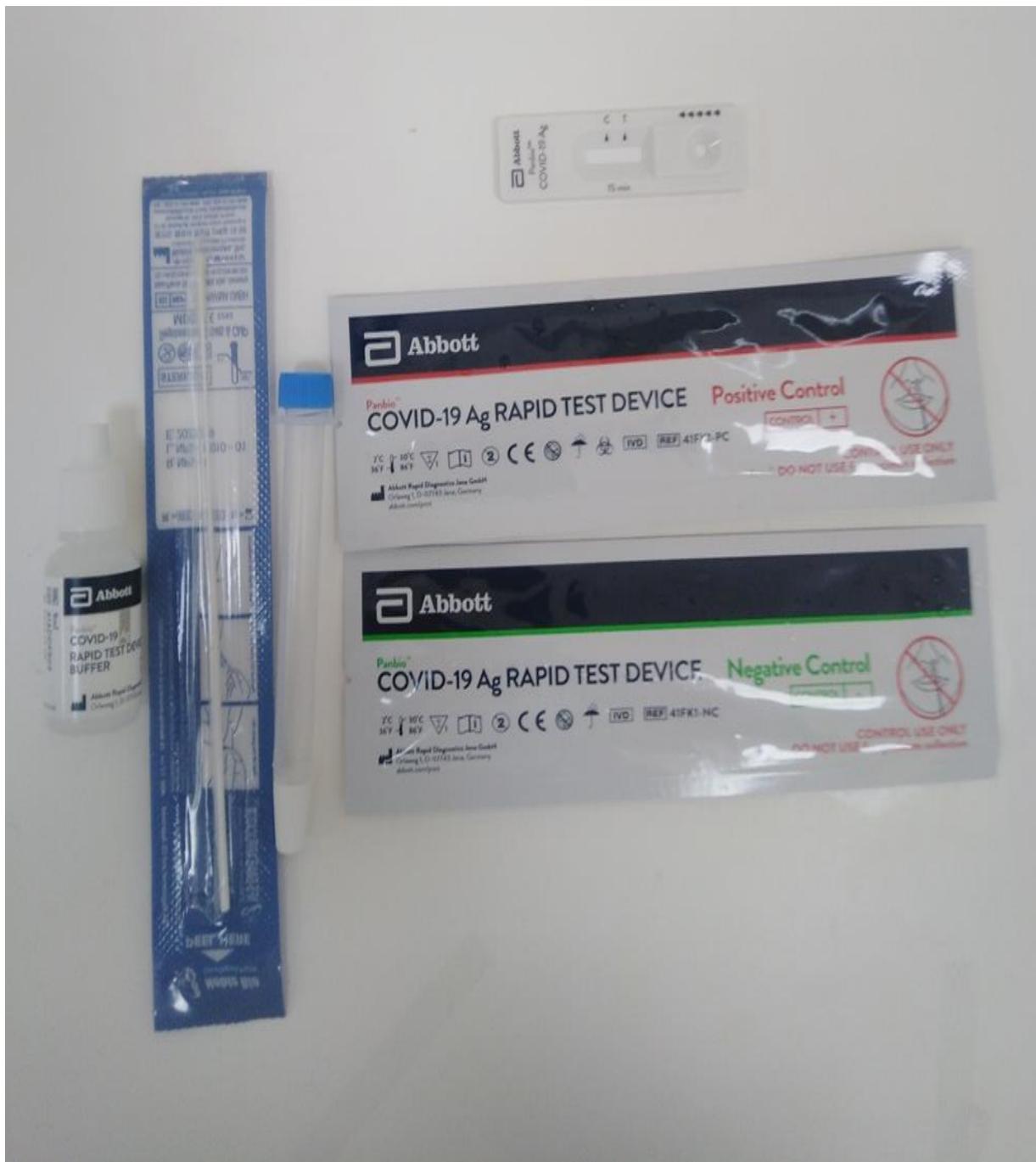
- 64- Traore A, Pot C, Bonvin C et al. Neurologie et COVID-19. *Rev Med Suisse*. 2020;16(692):947-9.
- 65- Kissling S, Pruijm M. Vue sur le COVID-19 depuis la néphrologie [COVID-19 from the nephrologist's point of view]. *Rev Med Suisse*. 2020;16(N° 691-2):842-4
- 66- Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020;323(13):1239–1242. doi:10.1001/jama.2020.2648
- 67- Onder G, Rezza G, Brusaferro S. Case-Fatality Rate and Characteristics of Patients Dying in Relation to COVID-19 in Italy. *JAMA*. 2020;323(18):1775–1776. doi:10.1001/jama.2020.4683
- 68- Instruction Numéro 09 / DGSSRH DU 16 Avril 2020 relative à la démarche diagnostique et thérapeutique du Covid-19. MINISTERE DE LA SANTE DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE
- 69- COVID-19 Diagnostic et Prise en charge thérapeutique Le nouveau chapitre du Méga-guide pratique des urgences Par Monique R 9/04/2020 [https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/aru/covid-19-diagnostic-therapeutique-urgences](https://www.elsevier.com/fr/fr/connect/aru/covid-19-diagnostic-therapeutique-urgences) accessed 01/05/2021
- 70- Mise au point du CNR sur la réalisation des prélèvements et la sensibilité des tests RT-PCR pour la détection du SARS-CoV-2, Société française de microbiologie Le 9 mai 2020
- 71- Société française de microbiologie. Fiche : Gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de COVID-19 Version 5. 6 avril 2020.
- 72- Haute Autorité de santé.COVID-19 : les tests salivaires peuvent compléter les tests nasopharyngés chez les personnes symptomatiques. 18 septembre 2020.
- 73- Ferhat Koçak, Jean-Michel Mrozovski, La place du pharmacien dans la détection de la Covid-19, *Actualités Pharmaceutiques*, Volume 59, Issue 601, 2020, Pages 41-43,
- 74- Jean-Luc Gala, Omar Nyabi, Jean-François Durant, Nawfal Chibani, Mostafa Bentahir, *Méthodes diagnostiques du COVID-19 Louvain Med* 2020 mai-juin; 139 (05-06) : 228-235
- 75- Imai, Kazuo et al. "Clinical evaluation of an immunochromatographic IgM/IgG antibody assay and chest computed tomography for the diagnosis of COVID-19." *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* vol. 128 (2020): 104393. doi:10.1016/j.jcv.2020.104393
- 76- Caroline Lefeuvre, Émilie Przyrowski, Véronique Apaire-Marchais, *Aspects virologiques et diagnostic du coronavirus Sars-CoV-2*, Volume 6840, Issue 599, 10/2020, Pages 1-64
- 77- Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020;323(22):2249–2251. doi:10.1001/jama.2020.8259
- 78- HAS. Revue rapide sur les tests RTLAMP sur prélèvement salivaire (hors système intégré de type EasyCoV). 27 novembre 2020
- 79- Organisation mondiale de la Santé, Détection des antigènes à l'aide de tests immunologiques rapides pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2 Orientations provisoires. 11 septembre 2020

- 80- Haute Autorité de Santé. Revue rapide sur les tests de détection antigénique du virus SARS-CoV-2. Saint-Denis La Plaine: HAS; 2020
- 81- Covid-19 : à quels tests se fier en 2021 ? Communiqué de l'Académie nationale de médecine, 11 février 2021
- 82- Guo, Li et al. "Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19)." *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* vol. 71,15 (2020): 778-785.  
doi:10.1093/cid/ciaa310
- 83- Okba NM., et al. SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients. medRxiv. 2020
- 84- Yongchen Z, Shen H, Wang X, et al. Different longitudinal patterns of nucleic acid and serology testing results based on disease severity of COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect* 2020;9:833–6.
- 85- Long Q-X, Liu B-Z, Deng H-J, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med* 2020;26: 845–8
- 86- Haute autorité de santé .Réponses rapides dans le cadre de la COVID-19 Prise en charge de premier recours des patients suspectés de Covid-19 Validée par le Collège le 18 juin 2020 Mise à jour le 9 mars 2021.
- 87- Instruction DGSSRH du 23 juillet 2020 relative a L'oxygénothérapie dans la prise en charge de la Covid .MINISTERE DE LA SANTE DE LA POPULATION ET DE LA REFORME HOSPITALIERE
- 88- <https://www.mesvaccins.net/> accessed 01/05/2021
- 89- <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/covid-19-impfstoffe/> accessed 01/05/2021
- 90- . Organisation Mondiale de la Santé, Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19 Scientific brief 8 April 2020
- 91- Détection des antigènes à l'aide de tests immunologiques rapides pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2 Orientations provisoires 11 septembre 2020.
- 92- OMS [https://www.who.int/diagnostics\\_laboratory/EUL/en/](https://www.who.int/diagnostics_laboratory/EUL/en/) visionné le 12Avril2021
- 93- RAPPORT DE SITUATION SUR L'EPIDEMIE DU COVID-19 EN ALGERIE 09 novembre 2020.
- 94- MINISTERE DE LA SANTE ET DE LA REFORME HOSPITALIERE.
- 95- RAPPORT DE SITUATION SUR L'EPIDEMIE DU COVID-19 EN ALGERIE 09 novembre 2020
- 96- « Coronavirus : l'Algérie réfléchit au confinement » , sur Le Parisien, 19 mars 2020 <https://www.leparisien.fr/international/coronavirus-l-algerie-reflechit-au-confinement-19-03-2020-8283987.php> (consulté le 21 avril 2021).
- 97- « Coronavirus en Algérie : le centre de dépistage d'Oran est opérationnel » sur Algérie 360, 23 mars 2020 <https://www.algerie360.com/coronavirus-en-algerie-le-centre-de-depistage-doran-est-operationnel/> (consulté le 21 avril 2021)..
- 98- « Coronavirus : L'annexe régionale de l'institut Pasteur à Ouargla opérationnelle » , <https://www.algerie-eco.com/2020/03/29/coronavirus-lannexe-regionale-de-linstitut-pasteur-a-ouargla-operationnelle/> sur Algérie Eco, 29 mars 2020 (consulté le 21 avril 2021).

- 99- « Avis aux laboratoires » , sur [pasteur.dz](https://pasteur.dz), <https://pasteur.dz/fr/dz/286-avis-aux-laboratoires> 29 mars 2020 (consulté le 21 avril 2021).
- 100- « Coronavirus en Algérie : Voici la capacité de tests par jour de l’Institut Pasteur » , sur Algérie 360, 31 mars 2020 <https://www.algerie360.com/coronavirus-en-algerie-voici-la-capacite-de-tests-par-jour-de-linstitut-pasteur/> (consulté le 21 avril 2020).
- 101- RAPPORT DE SITUATION SUR L’EPIDEMIE DU COVID-19 EN ALGERIE 09 novembre 2020
- 102- Algérie Presse Service, Coronavirus: prochaine réception de tests "antigènes" <https://www.aps.dz/sante-science-technologie/111741-coronavirus-prochaine-reception-de-tests-antigenes> Publié Le : Dimanche, 25 Octobre 2020 12:52 consulté le 24 avril 2021
- 103- Décret exécutif n° 20-109 du 12 Ramadhan 1441 correspondant au 5 mai 2020, JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 27, 13 Ramadhan 1441 6 mai 2020, page 8
- 104- Note N°945 du 08 juillet2020 A/S Procédures de dédouanement simplifiées dans le cadre de la lutte contre la pandémie du Coronavirus COVID-19 , la direction générale des douanes
- 105- Organisation Mondiale de la Santé, Détection des antigènes à l’aide de tests immunologiques rapides pour le diagnostic de l’infection à SARS-CoV-2, Orientations provisoires ,11 septembre 2020
- 106- APS Covid-19: Trois laboratoires nationaux se lancent dans la production des tests antigéniques et PCR , Publié Le : Dimanche, 29 Novembre 2020 17:13
- 107- Journal EL WATAN, L’Algérie lance la production de ses premiers tests rapides du coronavirus, SALIMA TLEMCANI 13 MAI 2020 À 10 H 09 MIN
- 108- APS Les coûts des tests de dépistage de la Covid-19 plafonnés Publié Le : Mercredi, 23 Décembre 2020 14:48
- 109- Algérie - Remboursement et plafonnement des tests anti-Covid 19 <https://www.businessfrance.fr/algerie-remboursement-et-plafonnement-des-tests-anti-covid-19> publié le Dimanche 3 Janvier 2021, visionné le 10juin2021
- 110- APS, Covid19-dépistage: remboursement des actes médicaux à partir de janvier 2021 Publié Le : Jeudi, 31 Décembre 2020 11:56
- 111- <https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/coronavirus-covid-19-bientot-tests-verifier-efficacite-votre-vaccin-86884/?fbclid=IwAR28Lger78RoP4NL4VVbU0MlmwCm1wiSFQkajBxxQdR9wrvmSx5UHPWFM4o>
- 112- [https://www.abingdonhealth.com/fr/produits/le-test-rapide-abc-19/?fbclid=IwAR2MGU9AEj40SVovqPP8VI0oHOTJdRYo7vpYelk-hAv9aOjZoxYbFw9\\_rJw#:~:text=Le%20test%20rapide%20AbC%2D19%E2%84%A2%20est%20un%20test%20rapide,les%20professionnels%20de%20la%20sant%C3%A9](https://www.abingdonhealth.com/fr/produits/le-test-rapide-abc-19/?fbclid=IwAR2MGU9AEj40SVovqPP8VI0oHOTJdRYo7vpYelk-hAv9aOjZoxYbFw9_rJw#:~:text=Le%20test%20rapide%20AbC%2D19%E2%84%A2%20est%20un%20test%20rapide,les%20professionnels%20de%20la%20sant%C3%A9)

- 113- Faíco-Filho, Klinger Soares ; Evaluation of the Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test at an Emergency Room in a Hospital in São Paulo, Brazil ; March 24, 2021. doi: <https://doi.org/10.1101/2021.03.15.21253313>
- 114- Eliseo Albert, et Al. Field evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device) for COVID-19 diagnosis in primary healthcare centres, *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 27, Issue 3, 2021, Pages 472.e7-472.e10
- 115- Linares M, Perez-Tanoira R, Romanyk J, Perez-García F, Gomez-Herruz P, Arroyo T, et al. Panbio antigen rapid test is reliable to diagnose SARS-CoV-2 infection in the first 7 days after the onset of symptoms. *MedRxiv* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.09.20.20198192>
- 116- Scohy A, Anantharajah A, Bodeus M, Kabamba-Mukadi B, Verroken A, Rodriguez- Villalobos H. Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. *J Clin Virol* 2020;129:104455 (Aug).
- 117- Haute autorité de santé Revue rapide sur les tests de détection antigénique du virus SARS-CoV-2, 8 octobre 2020.

## Annexes :



**Annexe 1 : Matériel fournit par le kit du test rapide.**



**Annexe 2 : Matériel fournit dans le kit d'extraction .**



**Annexe 3 :reactif fournit dans le kit PCR.**



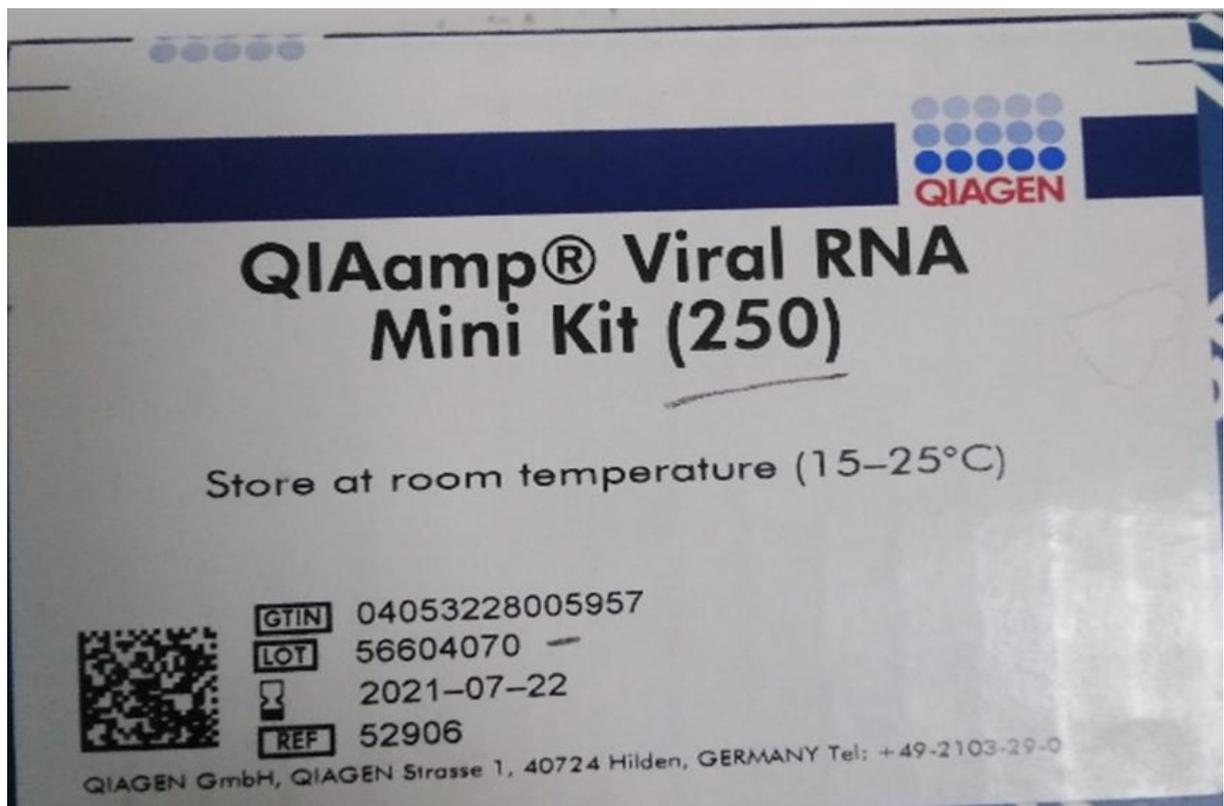
**Annexe 4 : Hotte avec stérilisation .**



**Annexe 5 : Réfrigérateur -20°C .**



**Annexe 6 : Bidon jaune.**



**Annexe 7 : Kit d'extraction de l'ARN.**



**Annexe 8 : Kit de la RT- PCR.**

**Fiche d'accompagnement au laboratoire  
d'un prélèvement à la recherche du coronavirus COVID-19**

Direction de la santé et de la population:.....  
 Hôpital de référence:.....  
 Service:.....  
 Nom du médecin traitant:.....  
 Téléphone/ Fax:.....

**Identification du patient:**

Nom:..... prénom: ..... Sexe: M/  F /   
 Date de naissance : /  /  /  ou Age : / \_\_\_\_\_ / en année  
 Si ≤ 1an, /  / en mois ou si ≤ 1 mois, /  / en jours  
 Nationalité : ..... Adresse : .....

**Prélèvement :**

-Type des prélèvements :  
 1- Nasal/  2- Pharyngé/  3- Nasopharyngé /  4-lavage broncho- alvéolaire/  5-Autres/  
 -Date du prélèvement/  /  /  -Date d'envoi au laboratoire/  /  /

**Contexte épidémiologique :**

-Date du début des symptômes : /  /  /   
 -Voyage récent (≤14jours) : Oui : /  Non : /   
 Si oui, pays:.....  
 période : du:.....Au:.....  
 période : du:.....Au:.....  
 Contact avec un cas : suspect : /  / confirmé : /  -Date d'hospitalisation : /  /  /

**Information clinique :**

1-Symptômes à l'admission(cocher tous les symptômes rapportés)  
 Fièvre (≤38°C)/  / Toux/  / Dyspnée/  / Céphalées : /  / Asthénie : /   
 Douleurs musculaire/  / Diarrhée : /  / Douleur abdominale/   
 Autre (préciser):.....  
 2- Antécédents et commorbidités: Non/  / Oui Inconnu/   
 Si oui, à préciser : \_\_\_\_\_

**Prescription/Vaccination :**

Prise d'un antiviral : oui/  / Non/  si oui (préciser):.....Date de début:/  /  /   
 Prise de vaccin antigrippal 2019-2020 : Oui/  / Non/  si oui date/  /  /

**Information de laboratoire :** (Réservée au laboratoire)

Date de réception : /  /  /  N° d'identification:.....  
 Etat de l'échantillon : Bon/  / Acceptable /  / Mauvais/

Signature du médecin demandeur

**Annexe 9 : Fiche d'accompagnement au laboratoire d'un prélèvement à la recherche du coronavirus COVID-19.**

REBUPLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE POPULATION ET DE LA SANTE  
ETABLISSEMENT HOSPITALIER SPECIALISE EN TRANSPLANTATION  
D'ORGANES ET DE TISSUS- BLIDA

Laboratoire central de biologie médicale

Bordereau d'envoi

Etablissement demandeur : TOT BLIDA

N°	Nom et prénom	résultat

Blida le .....

**Annexe 10 : Bordereau d'envoi.**

**Etablissement Hospitalier Spécialisé en Transplantation d'Organes et  
de Tissus de Blida**

**Laboratoire centrale de Biologie Médicale Unité de PCR**

**DR. OUNNAS chef de service**

**Compte rendu d'Analyse (Dépistage SARS-COV2)  
Covid-19**

**Demande de test Antigénique**

**Etablissement demandeur : EHS TOT**

**Nom :**

**Prénom :**

**Type de prélèvement : nasopharyngé**

**Date de prélèvement :**

**Commune de résidence : BLIDA**

**Résultat :**

**Recherche De Virus SARS-COV2 Par test antigénique :**

**Conclusion :**

**Annexe 11 : Compte rendu d'analyse (Dépistage SARS-COV2) Covid-19.**

Manipulateur :  
Date :

Nom du coffret:  
N° lot du coffret :

ANNEXE : Liste des extraits et PCR

	Numéro d'ordre	Extraction 1	Extraction 2	PCR 1	PCR 2
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
31					
32					
33					
34					
35					
36					
37					
38					
39					
40					
41					
42					
43					
44					
45					
46					
47					
48					

Annexe 12 : Liste des extraits et PCR.

											Page : 1/1	
Manipulateur : le :						Vérificateur : Date :			Version : 1			
Feuille de lecture Réaction												
Coffret RT-PCR:			Numéro de Lot :			EXP le:						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												

**Annexe 13 : feuille de lecture.**

## **Résumé :**

Notre travail a eu dans une première partie pour objectif, d'identifier les différentes offres sur le marché algérien en tests de diagnostic rapide de COVID-19, et définir les tests possédants les meilleures performances analytiques selon les résultats des études menées par les fabricants à partir d'une étude comparative. La deuxième partie du travail consistait à faire une étude prospective, dont l'objectif était d'évaluer les performances analytiques d'un Test de Diagnostic Rapide « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » utilisé au sein du laboratoire central de biologie médicale du centre de transplantation d'organe et de tissus de Blida, en comparaison avec la RT-PCR, dans le but d'estimer sa fiabilité et son éventuel positionnement, et sa place dans le dépistage et la prise en charge du COVID-19.

La première étude démontre que la majorité des tests antigéniques sont conformes aux modalités exigées par l'OMS malgré leurs sensibilité et spécificité variables, et que les tests rapides sérologiques semblent avoir une meilleure performance analytique que les tests de chimiluminescence.

La deuxième étude démontre que le test étudié a révélé une sensibilité de 87.5%, une spécificité de 100%, et un pourcentage de concordance globale de 98%, et donc peut être utilisé comme test de diagnostic pour le dépistage rapide des patients présentant Symptômes COVID-19, ou ceux suspectés d'être infectés vu que les résultats du test rapide antigénique présentent une bonne performance analytique, et une bonne concordance à ceux de la RT-PCR.

En conclusion, l'utilisation des tests rapides a contribué à la gestion de la Pandémie de COVID-19 notamment dans le contexte de manque des tests de biologie moléculaire, et de leurs couts élevés. Ils occupent une place indispensable dans la lutte contre le COVID-19.

## **Abstract:**

Our work had a first objective, of identifying the various offers on the Algerian market in rapid diagnostic tests of COVID-19, and to define the tests having the best analytical performances according to the results of the studies carried out by the manufacturers, in a comparative study. The second part of the work consisted in carrying out a prospective study, the objective of which was to evaluate the analytical performances of a Rapid Diagnostic Test "Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device" used in the central laboratory of medical biology of the organ and tissue transplantation center in Blida, in comparison with RT-PCR, in order to estimate its reliability, possible positioning, and its place in the screening and management of COVID-19.

The first study shows that the majority of antigen tests comply with the modalities required by WHO despite their varying sensitivity and specificity, and that rapid serological tests appear to have better analytical performance than chemiluminescence tests.

The second study shows that the test studied revealed a sensitivity of 87.5%, a specificity of 100%, and an overall concordance percentage of 98%, and therefore can be used as a diagnostic test for the rapid detection of symptomatic COVID-19 patients, or those suspected

of being infected since the results of the rapid antigenic test show good analytical performance, and a good agreement with those of the RT-PCR.

In conclusion, the use of rapid tests has contributed to the management of the COVID-19 pandemic, particularly in the context of the lack of molecular biology tests, and their high costs. They occupy an essential place in the fight against COVID-19.

#### ملخص:

كان هدف عملنا في الجزء الأول هو تحديد العروض المختلفة في السوق الجزائري في الاختبارات التشخيصية السريعة لكوفيد-19، وتحديد الاختبارات ذات الأداء التحليلي الأفضل وفقاً لنتائج الدراسات التي أجراها المصنعون بناء على دراسة مقارنة. اشتمل الجزء الثاني من العمل على إجراء دراسة استطلاعية، كان الهدف منها تقييم الأداء التحليلي لاختبار تشخيصي « Panbio COVID-19 Antigen Rapid test Device » المستخدم في المختبر المركزي لمركز البيولوجيا الطبية للعضو. و زراعة الأنسجة في البليدة، مقارنة بـ RT-PCR، من أجل تقدير موثوقيتها وتحديد موقعها المحتمل، ومكانتها في فحص وإدارة COVID-19.

أظهرت الدراسة الأولى أن غالبية اختبارات المستضد تتوافق مع الطرائق التي تطلبها منظمة الصحة العالمية على الرغم من الحساسية والنوعية المتفاوتة بينها، ويبدو أن الاختبارات المصلية السريعة لها أداء تحليلي أفضل من اختبارات التلألؤ الكيميائي.

أظهرت الدراسة الثانية أن الاختبار المدروس كشف عن حساسية 87.5%، وخصوصية 100%، ونسبة توافق إجمالية 98%، وبالتالي يمكن استخدامه كاختبار تشخيصي للكشف السريع عن المرضى الذين يعانون من أعراض COVID-19، أو أولئك المشتبه في إصابتهم، حيث أظهرت نتائج اختبار المستضد السريع أداءً تحليلياً جيداً، واتفقاً جيداً مع النتائج الخاصة بـ RT-PCR.

في الختام، ساهم استخدام الاختبارات السريعة في إدارة جائحة COVID-19، لا سيما في سياق عدم وجود اختبارات البيولوجيا الجزيئية، وارتفاع تكاليفها. إنهم يحتلون مكاناً أساسياً في مكافحة COVID-19

---

#### MOTS CLES :

Test Rapide, TDR, COVID-19, Test antigénique, Test sérologique, sensibilité, spécificité, RT-PCR