

Stage effectué au Laboratoire Centre Biologie de Fès

Année Universitaire 2020-2021

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je tiens à remercier vivement mon encadrant Dr. El Hassane LAABOUDI, Directeur du laboratoire CENTRE BIOLOGIE MAROC (CBM) d'avoir assuré l'encadrement de ce travail. Son aide, sa disponibilité, son expérience, son savoir scientifique et ses qualités professionnelles ont été déterminants dans l'aboutissement de ce travail.

Je remercie Pr. Lahsen EL GHADRAOUI, directeur du Laboratoire d'Ecologie Fonctionnelle et Génie de l'Environnement, pour ses efforts et ses conseils, ses critiques constructives ainsi que son grand soutien pour pouvoir mener à terme ce travail.

Mes remerciements et mes respects vont également aux membres de jury qui ont accepté de lire et de juger le présent travail, et plus particulièrement à Monsieur le professeur El Houssaine HARKI.

J'exprime ma profonde gratitude à Mr. Said HALOTI, Chef de Filière Sciences Biologiques Appliquées et Santé, ainsi tous les cadres administratifs et professoraux pour leurs efforts considérables.

Mes remerciements à toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation du présent travail.

DEDICACES

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents qui m'ont soutenu dès mon enfance moralement et matériellement.

Mes formateurs et formatrices, en témoignage d'un grand respect pour les efforts qu'ils nous n'ont pas cessés de déployer pour notre formation.

Tout le personnel de la faculté des Sciences et Techniques, Université Sidi Mohamed Ben Abdallah de Fès.

Mes chers collègues de Sciences Biologiques Appliqués Et Santé, toutes mes amies et camarades.

LISTE DES ABREVIATIONS

ACE-2 : Enzyme de conversion de l'angiotensine 2

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

CBM : Centre Biologie Maroc

COVID-19 : Coronavirus disease 2019

CRP : Protéine C réactif

DPP4 : Dipeptidyl-peptidase-4

ECBU : Examen cytobactériologique urinaire

ELFA : Enzyme Linked Fluorescent Assay

ELISA : Enzyme linked immuno sorbent Assay

FSH : Follicle stimulating hormone

HCoV : Coronavirus Humain

HE : Hémagglutination

IgA : Immunoglobuline A

IgD : Immunoglobuline D

IgE : Immunoglobuline E

IgG : Immunoglobuline G

IgM : Immunoglobuline M

MERS-CoV : Syndrome respiratoire du Moyen Orient

NFS : Numération de formule sanguine

OMS : Organisation mondiale de la santé

PCR : Polymerase chain reaction

SARS-CoV : Syndrome respiratoire aigu sévère coronavirus

SARS-CoV-2 : Syndrome respiratoire aigu sévère coronavirus

TP : Taux de prothrombine

TSH : Thyroid-Stimulating Hormone

VS : Vitesse de sédimentation

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques des virus : SARS-Cov-2, SARS-CoV et MERS	6
Tableau 2 : Classification taxonomique de coronavirus humain (HCoV)	8
Tableau 3 : Les différents vaccins	9
Tableau 4 : Les différents réactifs de la bande IgG et IgM	23
Tableau 5 : Composant du Kit de test utilisé	24
Tableau 6 : Interprétation des résultats IgG et IgM des patients.....	25
Tableau 7 : Résultats des tests IgG et IgM des patients.....	26
Tableau 8 : Résultats des IgG et IgM selon le sexe	28

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Graphe représentant l'évolution des cas confirmés, guérissons et décès du COVID-19.....	5
Figure 2 : Structure et composition d'un virus.....	7
Figure 3 : Structure du coronavirus SARS-CoV-2.....	9
Figure 4 : Coronavirus vu au microscope électronique.....	9
Figure 5 : Voies de transmission l'infection au SARS-CoV-2.....	11
Figure 6 : Structure général d'immunoglobuline Ig.....	13
Figure 7 : Structure d'immunoglobuline G ou IgG.....	14
Figure 8 : Structure d'immunoglobuline A ou IgA	14
Figure 9 : Structure d'immunoglobuline M.....	14
Figure 10 : Structure d'immunoglobuline D ou IgD.....	15
Figure 11 : Structure d'immunoglobuline E ou IgE.....	15
Figure 12 : Automate Mini Vidas utilisé dans nos analyses.....	21
Figure 13 : Cartouche des réactifs que nous utilisons dans nos analyses.....	22
Figure 14 : Concept de la bande IgG et IgM.....	22

SOMMAIRE

PRESENTATION DE LA STRUCTURE D'ACCUEIL.....	1
INTRODUCTION.....	2
I – GENERALITES	3
1. Historique	3
1.1. Epidémiologie du COVID-19 au Monde	4
1.2. Epidémiologie du COVID-19 au Maroc.....	4
2. Comparaison entre SARS-CoV, MERS-CoV et SARS-CoV 2.....	5
3. Coronavirus.....	6
3.1. Définition	6
3.2. Structure du virus.....	7
3.3. Covid-19 : Une infection respiratoire.....	7
3.4. Agent pathogène.....	8
3.5. Structure morphologique du SARS-CoV2.....	8
3.6. Génome du SARS-CoV2.....	9
4. Transmission	10
4.1. Voies de transmission.....	10
5. Diagnostic	11
5.1. Test moléculaire.....	11
5.2. Test antigénique.....	12
5.3. Test immunologique ou sérologique.....	12
5.3.1. Sérologie.....	12
5.3.2. Immunoglobulines	13
5.3.3. Différentes classes d'immunoglobulines.....	13
5.4. Test sérologique.....	15
5.4.1. Technique ELISA.....	16
5.4.2. Cinétique de réponse humorale.....	16
5.4.3. Test unitaires.....	17
6. Traitement.....	17
7. Prévention.....	18

8. Vaccin	18
8.1. Rappel.....	18
8.2. Mécanismes immunitaires.....	19
8.3. Différents vaccins.....	19
8.3.1. AstraZeneca.....	20
8.3.2. Pfizer.....	20
II - MATERIEL ET METHODES	20
1. Population et cible d'échantillonnage	20
2. Phase analytique	20
2.1. Prélèvement.....	20
2.2. Automate mini Vidas : objet et domaine d'application.....	21
2.2.1. Présentation.....	22
2.2.2. Cartouche de réactif simple.....	22
2.2.3. Description des bandes.....	22
2.2.4. Cônes.....	23
2.3. Principe de la technique ELFA.....	23
2.4. Etapes de dosages.....	24
III - RESULTATS ET DISCUSSION	25
1. Lecture	25
2. Interprétation des résultats	27
CONCLUSION GENERALE	28
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	29

STRUCTURE D'ACCUEIL

Le présent stage a été réalisé au sein du Laboratoire du **Centre Biologie-Maroc** de Fès qui se situe au boulevard Lalla Asmae, Immeuble Echcharki 1^{ère} étage, près de la mosquée Tajmouati. Celui-ci, a été construit en 2009. Ce laboratoire privé est accrédité sous la norme Italienne ISO15189 : 2013, et regroupe divers services, à savoir :

- Hématologie (NFS, VS, TP),
- Immunohématologie (COD, GRS),
- Bactériologie (ECBU, HEMOTULTURE, LCR),
- Immunosérologie (HIV, CRP),
- Hormonologie (TSH, FSH, Testostérone),
- Biologie Moléculaire (PCR),
- Biochimie (GLY, CA, CREA).

En outre, le laboratoire dispose d'une paillasse pour la Sérologie (Covid-19, D-Dimère, AMH) sur laquelle, nous avons réalisé notre étude en utilisant un processus bien organisé qui relie entre ces différentes composantes.

Les différents postes de travail du laboratoire sont répartis sur huit locaux :

- Salle d'hématologies et Immunohématologie,
- Salle de biochimie,
- Salle de bactériologie et parasitologie-Mycologie,
- Salle de sérologie et immuno-sérologie,
- Salle de biologie moléculaire,
- Locaux destinés au prélèvement (4 salles),
- Sites d'accueil d'orientations et de rendu de résultats,
- Bureau d'administrations et autres pour le biologiste.

INTRODUCTION

La maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) est causée par le SARS-CoV-2, un coronavirus nouvellement apparu, qui a été identifié pour la première fois à Wuhan (Chine) en Décembre 2019. La maladie est provoquée par un virus de la famille Coronaviridae, le SARS-CoV-2. Le séquençage génétique de ce virus suggère qu'il s'agit d'un bêtacoronavirus étroitement lié au virus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS). Cette maladie infectieuse est une zoonose, dont l'origine est encore débattue. Elle s'est rapidement propagée, d'abord dans toute la Chine, puis à travers le monde, provoquant ainsi, une épidémie mondiale. Le nombre de cas infectés augmentait d'une manière exponentielle dans le monde. (Fung et Liu., 2019)

À la fin du mois de mars 2020, la propagation rapide de l'infection s'est produite dans environ 206 pays à travers le monde. Récemment, les statistiques de l'OMS sur la pandémie de coronavirus ont révélé un nombre total de cas infectés de 53 millions et plus de 1 millions de décès dans le monde. La maladie se transmet par contact rapproché avec des personnes infectées. La majorité des personnes infectées présentent initialement une insuffisance respiratoire, mais certains d'entre eux évoluent vers une maladie plus systémique et un dysfonctionnement de plusieurs organes. Les personnes âgées et les personnes atteintes de comorbidités courent un risque accru de décès par la COVID-19.

La plupart des rapports de cas confirmés reposent sur des tests basés sur la réaction en chaîne par polymérase de patients symptomatiques. Ces estimations des cas confirmés ne comprennent pas les personnes qui se sont rétablies d'une infection, avec des symptômes légers ou inexistantes, et les personnes avec des symptômes qui n'ont pas été testées en raison de la disponibilité très limitée des tests. Des tests sérologiques précis et à grande échelle qui incluent la détection d'anticorps neutralisants sont essentiels pour évaluer la propagation de l'infection dans la communauté.

Le présent travail a pour objectif d'étudier la sérologie du Coronavirus-2 du syndrome respiratoire aigu sévère SARS-CoV-2 dans la région de Fès-Meknès, afin d'évaluer sa circulation dans la communauté au cours d'une période allant du 26 avril 18 Juin de l'année

2021. Ainsi que l'étude de la distribution des anticorps neutralisant le SARS-CoV-2 dans la population selon l'âge et le sexe. (Cheng, C. Y.,2020).

I - GENERALITES

Les coronavirus sont des virus à ARN fréquents, qui sont responsables d'infections respiratoires chez l'Homme et l'animal.

1 - Historique

Les coronavirus existent probablement depuis au moins des centaines de millions d'années, mais du point de vue de l'épidémiologie et de l'histoire médicale, c'est au XXI^e siècle qu'ils ont pris de l'importance.

C'était en 1930 aux Etats Unis que la première maladie due à un coronavirus a été observée, chez des volailles. Une année après, un médecin avait décrit dans un article que c'est une maladie qui cause une détresse respiratoire chez la poule et une diminution de la ponte et de la qualité des œufs. Depuis, des recherches sur la maladie continuaient.

En 1937, l'agent infectieux, le virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV pour *Infectious Bronchitis Virus*) a été isolé.

En 1946, un autre coronavirus a été identifié, le Coronavirus de la gastro-entérite transmissible porcine (TGEV). (Scott,.1999).

En 1965, le premier coronavirus infectant l'être humain (la souche B814) a été découvert. Et rapidement, d'autres virus apparaissent : 229E en 1966 et OC43 en 1967, qui sont responsables des infections de rhumes, plus ou moins graves, selon les personnes. (Leitner T,1996).

Le dernier coronavirus humain (ou récemment humanisé, très probablement à partir d'une ou plusieurs souches portées par des chauves-souris) semble avoir émergé à Wuhan en Chine en 2019 : le SARS-CoV-2. La maladie qu'il cause (Covid-19) a provoqué en quelques mois la première grande pandémie à coronavirus. (E. Petersen.,2020).

Les chauves-souris et les oiseaux, en tant que vertébrés volants à sang chaud, seraient les hôtes idéaux pour ces coronavirus, assurant l'évolution et la dissémination du

coronavirus. Les coronavirus sont normalement spécifiques à un taxon animal comme hôte, mammifères ou oiseaux selon leur espèce. Mais ils peuvent parfois changer d'hôte à la suite d'une mutation. Leur transmission interhumaine se produit principalement par contacts étroits via des aérosols respiratoires générées par les éternuements, la toux ou la phonation.

1.1 Epidémiologie du COVID-19 au monde

Le profil épidémiologique peut être divisé en trois phases :

- Epidémie locale marque la première phase en décembre 2019, à la ville de Wuhan, capitale de la province du Hubei en Chine, et qui est devenue le centre d'une épidémie de pneumonie de cause inconnue. L'émergence de nouveaux cas en dehors de Wuhan a été signalée le 13 janvier 2020. L'analyse épidémiologique a montré que déjà dans cette phase initiale, la transmission d'une personne à l'autre s'était produite par contact étroit.

- Deuxième phase a débuté le 13 janvier 2020, marquée par une expansion et une propagation rapide du virus dans les hôpitaux (infection nosocomiale) et par une transmission familiale (transmission par contact rapproché). Dans cette phase, l'épidémie s'est propagée de Wuhan à d'autres régions. Le premier cas en dehors de la Chine a été signalé en Thaïlande le 13 janvier. Puis après, le 23 janvier, de nombreuses provinces (29) et plus de six pays étrangers, ont signalé des cas confirmés, soit une augmentation d'environ 20 fois par rapport à la première phase. Pendant ce temps, la ville de Wuhan a mis en place un arrêt de tout mouvement à l'intérieur et à l'extérieur de la ville.

- Troisième phase a débuté le 26 janvier, marquée par l'augmentation rapide des cas en grappes. Le 10 février, une analyse rétrospective a montré que le nombre de cas en grappes représentait 50 à 80% de tous les cas confirmés à Pékin, Shanghai, Jiangsu et Shandong. Le 30 janvier, le nombre a augmenté d'une manière importante, et l'OMS a déclaré cette épidémie une USPP (Urgence de santé publique de portée internationale). Puis après, le 11 mars 2020, avec plus de 121 000 cas rapportés, l'OMS a officiellement déclaré que l'épidémie de la COVID-19 était considérée comme une pandémie mondiale. (Delanghe J. R. 2020).

1.2 - Epidémiologie du COVID-19 au Maroc

Le Maroc a enregistré son premier cas de COVID-19 au 02 mars 2020 à Casablanca. Il s'agissait d'un Marocain arrivant de l'Italie, le deuxième cas a également été confirmé le même jour, impliquant une Marocaine de 89 ans résidante également en Italie. Le Maroc a réagi plus rapidement et plus efficacement que les autres pays d'Afrique du Nord, en décrétant l'état d'urgence et le verrouillage total du pays. Au cours de la semaine du 9 au 15 mars 2020, le Maroc a mis en œuvre des mesures pour contenir la propagation de l'épidémie. Ainsi, les déplacements vers plusieurs pays ont été suspendus. Le ministère de l'Education nationale, de la formation professionnelle, de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique a annoncé la fermeture de nombreux établissements dont les crèches, écoles, collèges, lycées et les universités à partir du 16 mars et jusqu'à nouvel ordre. Le 16 mars, le Ministère de l'Intérieur a ordonné la fermeture de nombreux espaces publics et installations du domaine public. Puis le 19 mars, il a déclaré l'état d'urgence sanitaire et restreint la circulation au Maroc. (R. El Kahkahi., 2020).

En parallèle, des mesures accompagnant la mise en œuvre de confinement général ont été suivies. L'obligation de porter un masque à l'extérieur a été décidée depuis le mardi 7 avril. À Casablanca, dans certaines régions comme Benslimane et Nouaceur, des milliers de lits



d'hôpitaux ont été installés pour recevoir des patients du nouveau coronavirus (COVID-19) dans le Royaume. Au 30 Novembre 2020, l'évolution de la pandémie varie dans le temps, comme le montre la figure ci-dessous, le ministère de la santé a annoncé un nouveau bilan de 356 336 de contaminations dans le royaume depuis le premier cas signalé le 2 mars et de 305 291 de personnes totalement rétablies, soit un taux de guérison de 81,7%. Quant au

taux de létalité, il est de 1,7%. Le nombre de décès est ainsi, de 5 619. (« <https://www.coronavirus-statistiques.com/stats-pays/coronavirus-nombre-de-casmaroc/> », jui. 14, 2020.)

Figure 1 : Evolution des cas confirmés, guérissons et décès de Covid-19

2- Comparaison entre les virus : SARS-CoV-2, SARS-CoV et MERS

Le SARS-CoV-2 est un virus bêta-corona qui partage des similitudes avec les virus du SARS et du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS), qui étaient auparavant responsables de pandémies en 2003 et 2012. Le nouveau coronavirus SARS-CoV-2 se montre moins mortel mais bien plus transmissible que le MERS-CoV ou le SARS-CoV (tableau ci-dessous). (Y.-F. Tu et al., 2020).

Virus	SARS-CoV-2	SARS-CoV (ou SARS-CoV-1)	MERS-CoV
Maladie	Covid-19	SRAS (Syndrome respiratoire aigu sévère)	MERS (Syndrome respiratoire du Moyen-Orient)
Année d'apparition	Décembre 2019	Novembre 2002	Avril 2012
Symptômes	D'une maladie asymptomatique ou bénigne à une détresse aiguë des voies respiratoires supérieures et à une défaillance multi-organique entraînant la mort. Varie entre les individus. Des vomissements et des diarrhées sont également signalés.	D'une maladie asymptomatique ou bénigne à une détresse aiguë des voies respiratoires supérieures et à une défaillance multi-organique entraînant la mort. Varie entre les individus. Des vomissements et des diarrhées sont également signalés.	D'une maladie asymptomatique ou bénigne à une détresse aiguë des voies respiratoires supérieures et à une défaillance multi-organique entraînant la mort. Varie entre les individus. Des vomissements et des diarrhées sont également signalés.
Transmission interhumaine	<ul style="list-style-type: none"> • Gouttelettes respiratoires • Contact étroit avec des patients malades • fécale-orale • aérosol 	<ul style="list-style-type: none"> • Gouttelettes respiratoires • Contact étroit avec des patients malades • Fécal-oral • Aérosol 	<ul style="list-style-type: none"> •Gouttelettes respiratoires • Contact étroit avec des patients / chameaux malades
Période d'incubation	4 -12 jours	2 -7 jours	5 - 15 jours
Taux de mortalité	6,6%	9,6%	34,3%.
Réservoir	La Chauve-souris	La Chauve-souris	Le dromadaire
Origine	Hubei, Chine	Guangdong, Chine	Arabie Saoudite
Récepteur cible	ACE-2	ACE-2	DPP4, également connu sous le nom de CD26

Tableau 1 : Caractéristiques des virus : SARS-CoV-2, SARS-CoV et MERS.

3- Coronavirus

3.1 Définition

Le virus est un organisme microscopique d'environ 10 fois plus petit qu'une bactérie et de 100 à 1000 fois plus petit qu'une cellule humaine, de dimension très faible soit 0,02 à 0,3 µm. Il est constitué du matériel génétique, qui peut être composé d'ADN ou d'ARN, entourés d'une enveloppe moléculaire.

Généralement, les virus sont des agents infectieux nécessitant un hôte, souvent une cellule, dont ils se servent du métabolisme et de ses constituants pour se dupliquer. Au cours de leur cycle de vie, ils changent de forme et passent par deux stades :

- Virion qui est une forme extracellulaire qui infectera rapidement une nouvelle cellule,

- Une forme intracellulaire, donc dans la cellule hôte.

Le mécanisme du virus est d'entrer dans une cellule, son hôte, et de se servir de la machinerie cellulaire de manière à produire de nouvelles particules de virus. De la sorte, il se duplique, en milliers de copies, à travers les cellules.

3.2 Structure du virus

La structure du virus est montrée sur la figure ci-dessous) dont on en distingue :

- **Matériel génétique** : sous la forme d'ADN ou d'ARN. L'ARN est un type spécial de matériel génétique qui peut être utilisé pour fabriquer rapidement des protéines,
- **Capsule** : Le matériel génétique est entouré d'une capsule faite de protéines virales spécialisées.
- **Enveloppe** : Constituée de graisse (lipides) et de protéines virales spécialisées. L'enveloppe est également appelée membrane. La combinaison du matériel génétique entouré par la capsule est appelée particule virale.

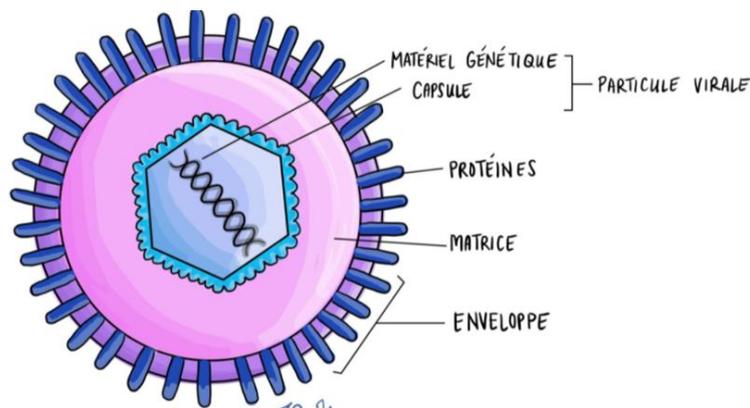


Figure 2 : Structure et composition d'un virus

3.3- Covid-19 : une infection respiratoire

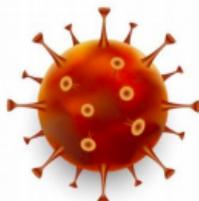
COVID-19 ou maladie à coronavirus 2019 est une infection respiratoire due à un coronavirus qui peut se propager d'une personne à l'autre. C'est une maladie infectieuse (une zoonose), dont l'origine est encore débattue. Cette maladie a été identifiée pour la première fois lors d'une enquête sur une épidémie à Wuhan, en Chine, et s'est rapidement propagée à travers le monde pour devenir la première pandémie causée par un coronavirus. Le coronavirus SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2, francisé en SRAS-CoV-2 (Syndrome Respiratoire Aigu Sévère), initialement 2019-nCoV puis "SARS-CoV-2 cette

maladie a été renommée COVID-19 par l'OMS, abréviation de « Corona Virus Disease 2019. (A. Bahrami et G. A. Ferns, 2020).

3.4 - Agent pathogène

Dans une déclaration du groupe d'étude sur les coronavirus du Comité international sur la taxonomie des virus, qui est responsable de l'élaboration de la classification officielle des virus et de la dénomination des taxons (taxonomie) de la famille des Coronaviridae. Ce virus est officiellement reconnu, comme étant apparenté au coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV). Le SARS-CoV-2 est le virus responsable de la COVID-19. Le réservoir viral peut être des chauves-souris, vu la forte homologie du SARS-CoV-2 avec d'autres virus de type SARS trouvés chez les chauves-souris. Les Coronavirus sont des virus à ARN, ils appartiennent à l'ordre des Nidovirales et plus particulièrement, à la famille des Coronaviridae. Ces virus sont retrouvés majoritairement chez les oiseaux et les mammifères. Cette famille est composée de 4 genres : Alpha-, Beta, Gamma- et Delta-coronavirus. Le SARS-Cov-2 est un Béta-Coronavirus. (C.S.G. 2020).

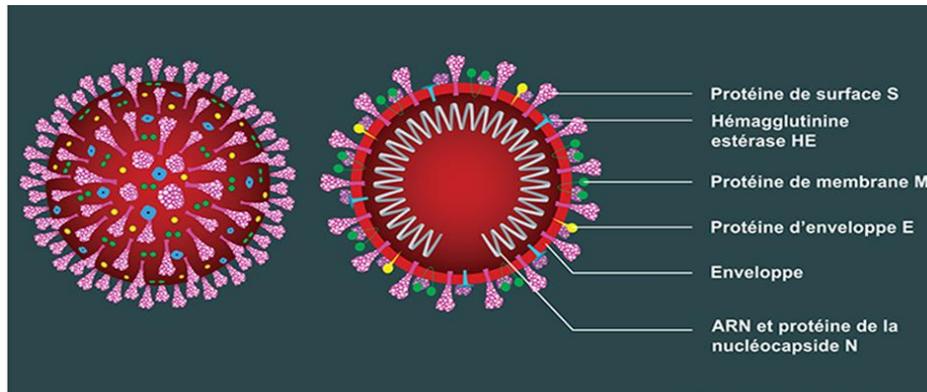
Tableau 2 : Classification taxonomique de coronavirus humain (HCoV)

Coronavirus humains (HCoV)	
Type : Virus	
Ordre : Nidovirales	
Sous-ordre : Coronavirinae	
Famille : Coronaviridae	
Sous-famille : Orthocoronavirinae	
Genres : <ul style="list-style-type: none"> • Alpha-coronavirus : HCoV-229E et HCoV-NL63 • Beta-coronavirus : <ul style="list-style-type: none"> Clade A: HCoV-OC43 et HCoV-HKU1 Clade B: SARS-CoV Clade C: MERS-CoV 	
Génome : ARN monocaténaire linéaire de polarité positive ; 27 à 32 kb	Taille : 80 à 200 nm

3.5 - Structure morphologique du SARS-CoV-2

Les coronavirus sont des particules sphériques, associées à un ARN simple brin positif, non segmenté. Ils ont une nucléoprotéine, une capsid, une matrice et une protéine S.

Le nom coronavirus provient de l'aspect en couronne des spicules formées par la protéine-S à la surface de l'enveloppe virale au microscope électronique. Le SARS-CoV-2 diffère des



autres coronavirus en codant pour une glycoprotéine supplémentaire qui possède des propriétés d'acétyl estérase et d'hémagglutination (HE). (- S. Kannan, P. S.2020).

Figure 3 : Structure du coronavirus SARS-Cov-2

L'observation au microscope électronique du corona virus nous montre que sa forme est sphérique et son allure est couronnée d'où le nom de corona.

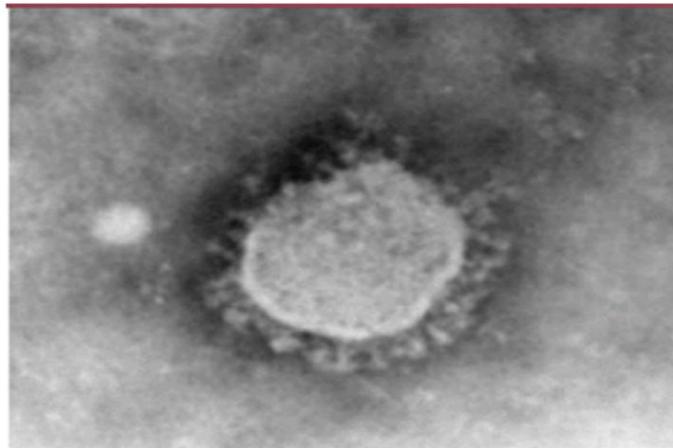


Figure 4 : coronavirus vu au microscope électronique

3.6 - Génome du SARS-CoV2

Le génome du SARS-CoV-2 comprend environ 30 000 nucléotides organisés en gènes spécifiques, codant pour des protéines structurales et des protéines non structurales (Nsps). Les deux tiers du génome codent pour un vaste gène réplicase (composé de : Orf1a et Orf1b) qui sera traduit en deux polyprotéines, et par la suite clivées en seize protéines non

structurales indispensables à la réplication virale. Le tiers restant du génome code essentiellement pour les protéines de structures du virus, dont quatre glycoprotéines membranaires :

- Glycoprotéine de surface (S), responsable de la reconnaissance des cellules hôtes,
- Protéines membranaires (M), responsables de la mise en forme des virions,
- Protéines d'enveloppe (E), responsables de l'assemblage et de la libération des virions,
- Protéines de la nucléocapside (N) sont impliquées dans l'empaquetage du génome de l'ARN et des virions et jouent un rôle d'inhibiteur de l'interféron (IFN).

Le SARS-CoV-2 forme une particule sphérique d'un diamètre de 100-160 nm composés d'ARN simple brin polarisé positivement et de cinq protéines de structures : la protéine Spike sous forme trimérique qui se lie au récepteur cellulaire, trois autres protéines transmembranaires (la glycoprotéine d'enveloppe (E) , de membrane (M) et l'Hémagglutinine-Estérase [HE]) et la protéine de capsid (N). La nucléocapside formée de l'ARN viral complexé à la protéine N est enchâssée à l'intérieur de l'enveloppe. (S. Kannan, P. S.2020).

4 - Transmission

Initialement, on pensait que ce virus est transmis de l'animal à l'homme, puisque plus de la moitié des sujets atteints avaient fréquenté le marché de fruits de mer, cependant les jours suivants ont permis d'écarter cette hypothèse. Actuellement, il est admis que la transmission interhumaine est la principale voie de transmission. (S. P. Adhikari et al.,2020).

4.1 Voies de transmission

Il existe trois voies de transmission principales pour le COVID-19 (figure ci-dessous) :

- **Transmission par contact**, elle peut se produire lorsqu'un sujet touche une surface ou un objet contaminé par le virus et touche ensuite, une partie de son corps : sa bouche, son nez ou ses yeux. Il semble que la viabilité du virus dans un environnement intérieur varie en fonction de la température de l'air, le degré d'humidité, et selon le type de surface sur lequel ils se déposent.
- **Transmission par aérosol**, elle peut se produire lorsque des gouttelettes respiratoires se mélangent dans l'air, formant des aérosols et peuvent provoquer une infection lors de l'inhalation de fortes doses dans un environnement fermé. Cependant, considérant que la

transmission de la COVID-19 se produit principalement lorsqu'une personne infectée projette des gouttelettes à proximité d'une autre personne est l'important pouvoir de dilution de l'air ambiant, le risque d'être infecté par le virus dans l'environnement extérieur est considéré comme faible lorsque les mesures sont respectées.

- **Transmission par voie aérienne**, les gouttelettes de postillons émises au cours des efforts de toux mais aussi de la parole.



Figure 5 : Voies de transmission l'infection au SARS COV2

5 - Diagnostic

Il est essentiel de détecter le SARS-CoV2 à un stade précoce et d'isoler immédiatement la personne infectée de la population saine. Les échantillons sanguins et respiratoires, notamment de gorge, oropharyngés et nasaux, et de salive sur des patients suspects sont utilisés comme échantillons cliniques pour la détection des virus respiratoires. Les échantillons sont soumis à des tests moléculaires, sérologiques et antigéniques spécifiques au COVID-19 pour le diagnostic. Le diagnostic de COVID-19 repose sur un ensemble de critères épidémiologiques, de symptômes cliniques ainsi que sur des examens biologiques et d'imagerie. La qualité de la réalisation des prélèvements (écouvillon nasal profond) et la durée de transport vers les laboratoires sont essentielles pour éviter les faux négatifs. (Castro,2020).

5.1 - Test moléculaire

La réaction en chaîne par transcription inverse-polymérase (RT-PCR) : est actuellement l'une des méthodes d'analyses biologiques les plus largement utilisées pour détecter, suivre et étudier le virus SARS-CoV-2 ; elle permet de déterminer si une personne est

porteuse du virus au moment du test. La méthode utilise des marqueurs fluorescents pour détecter le matériel génétique ciblé. La transcription inverse est un processus dont la transcriptase inverse, ou rétrotranscriptase, est une enzyme qui permet de convertir l'ARN en ADN. Ainsi l'ADN peut être amplifié ce qui est un élément-clé du processus RT-PCR en temps réel pour la détection des virus. Le test par PCR est positif 1 à 2 jours avant le début des symptômes et dans les deux à trois semaines suivantes. (Li Y, Yao, 2020).

5.2 - Tests antigéniques

Un antigène est la partie d'un pathogène qui déclenche une réponse immunitaire. Les méthodes antigéniques détectent la présence des protéines spécifiques du SRAS-CoV-2. En général, elles se focalisent sur la protéine N, la plus répandue dans la composition de ce virus. Les tests de diagnostic rapide basés sur la détection d'antigènes détectent la présence de protéines virales (antigènes) exprimées par le virus SARS-COV-2 dans un échantillon prélevé au niveau des voies respiratoires (écouvillonnage oro ou nasopharyngé, crachats). Si l'antigène cible est présent en concentration suffisante dans l'échantillon, il se lie à des anticorps spécifiques fixés sur une bande de papier enfermée dans un boîtier en plastique et génère un signal visuellement détectable, généralement dans les 30mn.

Ces tests sont rapides et d'une haute spécificité, mais ils sont caractérisés par une faible sensibilité. Toutefois, compte tenu de leurs faibles performances notamment en cas de charge virale basse, ces tests antigéniques ne sont à ce jour pas recommandés en usage clinique dans le cadre du COVID-19 comme l'a souligné l'Organisation mondiale de la santé (OMS) dans sa position du 08 avril 2020. (World Health Organisation, « Coronavirus disease (COVID-19) advice for the public »).

5.3 - Tests immunologiques ou sérologiques

5.3.1- Sérologie

Etymologiquement, la sérologie, vient des termes logos désignant la connaissance et "*sérum*", le liquide exsudant du lait coagulé. Le sérum se distingue du plasma par le fait qu'il ne contient plus les facteurs consommés par la coagulation.

La sérologie est la spécialité médicale qui étudie les sérums, leurs propriétés, ainsi que leurs spécificités immunitaires (antigènes et anticorps) présentées en raison d'une maladie,

le plus souvent de nature infectieuse, c'est-à-dire principalement bactérienne ou virale, parfois parasitaire. Il s'agit d'une spécialité de la biologie médicale, qui s'exerce en laboratoire d'analyses médicales. Elle vise notamment à rechercher les anticorps présents, marqueurs de la présence d'un microbe, et parfois, dans le cas des maladies auto-immunes, à rechercher les anticorps dirigés contre des éléments propres à l'individu. (Haute Autorité de Santé.,2020).

Selon les techniques mises en jeu et les buts poursuivis, on distingue la sérologie bactérienne, virale, parasitaire, la sérologie des maladies auto-immunes, etc. Ainsi, la sérologie consiste à rechercher soit :

- L'agent pathogène responsable de la pathologie infectieuse, dans le cas des diagnostics directs.
- La réponse immunitaire spécifique de l'organisme à l'agent pathogène, ce qui sera un diagnostic indirect.

Elle pourra aussi révéler la présence de types particuliers d'anticorps : anticorps des groupes sanguins et auto-anticorps (des anticorps produits par un organisme contre ses propres molécules ou ses propres cellules).

5.3.2 - Immunoglobulines

Les anticorps forment dans leur ensemble une famille de protéines plasmatiques connues sous le nom d'immunoglobulines. Les anticorps sont produits par les cellules B. La molécule d'immunoglobuline a une forme en Y. Elle est constituée de trois segments de taille égale reliés par une zone de jonction flexible. Toutes les immunoglobulines ont une structure de base identique. Elles sont formées de deux paires de chaînes lourdes et légères reliées par des ponts disulfures.

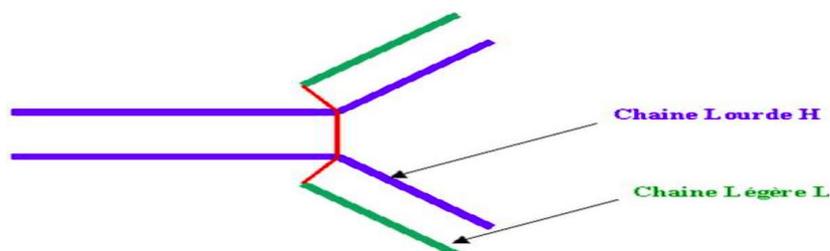


Figure 6 : Structure général d'immunoglobine

5.3.3 Différents classes des immunoglobulines

On distingue chez la plupart des mammifères 5 classes d'immunoglobulines : IgM, IgG, IgA, IgD, et les IgE. Elles diffèrent par leur poids moléculaire, leur charge, leur composition en acides aminés et en sucres.

- Les immunoglobulines G ou IgG sont les plus abondantes. Elles sont fabriquées lors d'un contact avec un antigène . Elles protègent l'organisme contre les bactéries, les virus, et les toxines qui circulent dans le sang et la lymphe. Elles participent également, à la réponse mémoire, base de l'immunité sur laquelle repose le mécanisme de la vaccination.

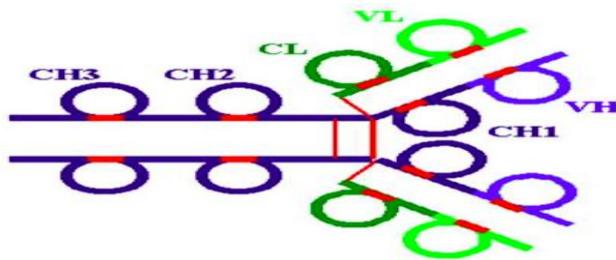


Figure 7 : structure d'immunoglobuline G ou IgG

- Les immunoglobulines A ou IgA se trouvent essentiellement dans les sécrétions comme la salive, le suc intestinal, la sueur et le lait maternel. Le rôle essentiel des IgA est d'empêcher les agents pathogènes de se lier à la cellule et plus spécifiquement aux cellules de



recouvrement constituant les muqueuses et l'épiderme (couche superficielle de la peau).

Figure 8 : Structure d'immunoglobuline A ou Ig A.

- Les immunoglobulines M ou IgM sont des immunoglobulines sécrétées lors du premier contact de l'organisme avec un antigène. C'est la première classe d'immunoglobulines libérée par une variété de globules blancs : les plasmocytes. La présence d'IgM dans le sang indique une infection en cours.

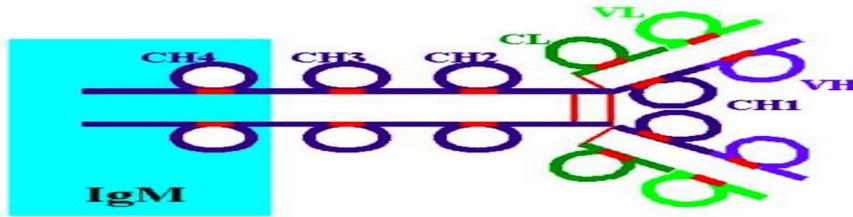


Figure 9 : Structure d'immunoglobulines M ou IgM

- Les immunoglobulines D ou IgD sont une variété d'immunoglobulines le plus souvent attachées à la surface des lymphocytes B. où elles jouent un rôle de récepteurs des antigènes. Elles interviendraient dans la maturation des lymphocytes, c'est-à-dire dans le mécanisme permettant à ces globules blancs de devenir efficaces.

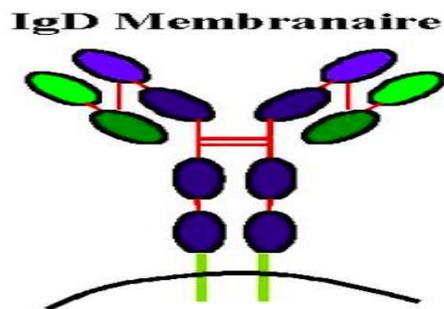


Figure 10 : Structure d'immunoglobuline D ou IgD

- Les immunoglobulines E ou IgE sont sécrétées par une variété de globules blancs, les plasmocytes, dans la peau, les voies digestives, les amygdales et les voies respiratoires. Dès la capture d'un antigène, l'immunoglobuline déclenche la libération de produit participant à la réaction inflammatoire, et d'histamine entrant dans la réaction allergique.

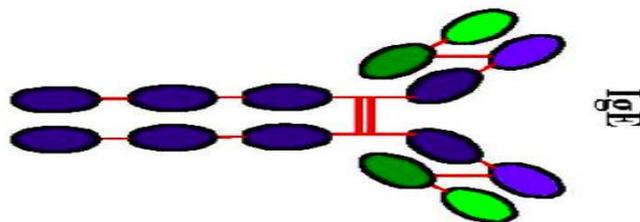


Figure 11 : Structure d'immunoglobuline E ou IgE

5.4- Tests sérologiques

Les tests sérologiques permettent la détection et le dosage des anticorps (Ac) spécifiques (immunoglobulines : Ig) produits par l'organisme et dirigés contre le Sars-CoV-2 à un épisode symptomatique ou à la vaccination. Ces tests sont réalisés sur des prélèvements de sang et pourraient utiliser pour identifier les patients ayant développé une immunité vis-à-vis du Sars-CoV-2 qu'ils aient été symptomatiques ou pas et connaître le statut sérologique de personnes exposées (professionnels de santé par exemple). Ces tests reposant sur une méthode immunoenzymatique, qui permet d'examiner un nombre élevé de sérums, certains d'entre eux mettant en évidence différents isotypes d'anticorps (IgM, IgA, IgG) et d'autres, uniquement les IgG ; ils peuvent être adaptables sur des automates d'analyses.

On en distingue les tests dit tests ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) et les tests immuno-chromatographiques. (Xie J., 2020).

5.4.1 - ELISA

Technique de dosage d'immunoabsorption par enzyme liée « Enzyme-Linked Immuno Assay » ou test ELISA est un test immunologique qui permet la détection ou le dosage de molécules dans un échantillon biologique. Le test ELISA est principalement utilisé en immunologie afin de détecter et/ou doser la présence de protéines, d'anticorps ou d'antigènes dans un échantillon. Ce test sérologique détecte notamment les anticorps produits par l'organisme en réponse à la contamination virale. Ce test permet de visualiser, à partir d'un échantillon biologique, les réactions entre un antigène - corps considéré comme étranger par l'organisme vivant - et un anticorps à l'aide d'une réaction colorée produite par un marqueur enzymatique - généralement la phosphatase alcaline et la peroxydase - préalablement fixé à l'anticorps.

La réaction colorée permet de confirmer l'identification de la bactérie isolée ou la présence du virus recherché et l'intensité de la couleur donne une indication de la quantité d'antigènes ou d'anticorps dans l'échantillon donné. A réaliser plus de 2 à 3 semaines après le début des symptômes, le test ELISA permet d'identifier, en moins d'une heure, la présence des anticorps anti-SARS-CoV-2.

5.4.2 Cinétique de la réponse humorale

Les anticorps spécifiques des classes IgM ou IgA apparaissent assez précocement, 7 à 9 jours après le début des symptômes. Ils sont plus volontiers présents au cours des infections sévères chez les patients hospitalisés, notamment ceux en réanimation. Leur détection peut s'étaler sur plusieurs semaines. Leur présence est inconstante, même dans les formes graves. Les anticorps spécifiques de classe IgG peuvent être détectés avec plus ou moins de retardement par rapport au début des signes cliniques, mais beaucoup plus précocement chez les patients souffrant d'une forme grave d'infection. Au contraire, dans les formes paucisymptomatiques ou asymptomatiques, leur détection est volontiers différée au-delà du quatorzième jour et jusqu'à 30 jours après le début des signes cliniques. Environ deux tiers des patients asymptomatiques ou présentant une forme bénigne ne développent pas de réponse humorale. (Shen B, Zheng Y, 2020).

5.4.3 Tests unitaires

Test rapide ou test immuno-chromatographique est un test sérologique rapide de diagnostic du COVID-19 IgG/IgM (Sang total/Sérum/Plasma). C'est un test immuno-chromatographique en phase solide pour la détection rapide, qualitative et différentielle des anticorps IgG et IgM dirigés contre le nouveau coronavirus 2019 (SARSCoV-2) dans le sang total humain, le sérum ou le plasma. Ce test ne fournit qu'un résultat de test préliminaire. Par conséquent, tout échantillon qui réagit avec le test rapide COVID-19 IgG/IgM (Sang Total/Sérum/Plasma) doit être confirmé par des méthodes de test alternatives et des résultats cliniques.

Le test utilise des anticorps IgM anti-humaine (IgM de ligne de test), IgG anti-humaine (IgG de ligne de test) et IgG de lapin (ligne de contrôle C) immobilisés sur une bandelette de nitrocellulose. Le tampon conjugué de couleur bordeaux contient de l'or colloïdal conjugué à des antigènes recombinants COVID-19 (COVID-19 conjugués). Lorsqu'un échantillon à tester suivi d'un tampon de test est ajouté au réceptacle de retenue des échantillons, les anticorps IgM et / ou IgG, le cas échéant, se lieront aux conjugués COVID-19, formant un complexe anticorps antigènes. Ce complexe migre à travers la membrane de nitrocellulose par capillarité.

Lorsque le complexe rencontre la ligne de l'anticorps immobilisé correspondant (IgM anti-humaine et / ou IgG anti-humaine), le complexe est piégé en formant une bande de couleur bordeaux qui confirme un résultat de test réactif. L'absence d'une bande colorée dans la zone de test indique un résultat de test non réactif. Pour servir de contrôle procédural, une bande colorée passera toujours du bleu au rouge dans la zone de la ligne de contrôle, indiquant que le volume approprié d'échantillon a été ajouté et que la membrane s'est évaporée.

6 - Traitement

Le traitement du COVID-19 repose initialement sur la prévention de la contamination. Cependant, la plupart des symptômes de la maladie sont traitables et une prise en charge médicale rapide peut atténuer les risques.

La chloroquine semble un traitement efficace pour la prévention et le traitement de la pneumonie à COVID-19. L'hydroxychloroquine a probablement la même action sur les virus que celle de la chloroquine puisque le mécanisme d'action de ces deux molécules est identique, et l'hydroxychloroquine peut être prescrite pendant de longues périodes, ce qui serait donc, le premier choix dans le traitement du COVID-19. (Felsenstein S,2020).

7- Prévention

Il est important de prévenir la propagation de COVID-19, car il est très contagieux et dangereux pour certaines personnes, comme celles dont le système immunitaire est défaillant et les personnes les plus âgés (plus de 60 ans). Selon l'OMS, les moyens de prévention efficaces pour ne pas contracter le COVID-19, mais aussi pour éviter sa propagation, sont :

- Se laver les mains régulièrement ou utiliser une solution hydroalcoolique. Cela permet d'éliminer les microbes, y compris les virus qui peuvent être sur vos mains.
- Tousser ou éternuer dans votre coude, ou dans un mouchoir.
- Éviter de vous toucher les yeux, le nez et la bouche.
 - Utiliser des mouchoirs à usage unique.
 - Saluer sans serrer la main.
- Conserver une distance d'au moins 1,5 mètre avec tout interlocuteur. (S. P. Adhikari et al.,2020).

8- Vaccin

8.1 - Rappel

Nous possédons naturellement un système de défense contre les éléments étrangers à notre organisme, telles les bactéries et autres micro-organismes, système qui constitue notre immunité innée. Mais ce système de défense n'existe pas vis-à-vis de tous les micro-organismes, dont nous sommes la cible ou bien est insuffisant pour nous protéger, notamment contre ces microorganismes particulièrement virulents ou en infection aiguë. La vaccination a été développée pour compléter en quelque sorte notre immunité innée : elle développe dans l'organisme une immunité acquise.

Une fois l'agent infectieux identifié, isolé et analysé, on injecte au sujet à vacciner ce micro-organisme, soit inactivé, soit vivant, mais atténué, soit encore un élément purifié de ce même micro-organisme. Lors d'un contact ultérieur avec le micro-organisme, ces anticorps le reconnaîtront, le prépareront et permettront à des cellules immunitaires spécialisées de le neutraliser, voire de le détruire, supprimant ainsi la possibilité d'infection.

Grâce à la « mémoire » des lymphocytes spécialisés du système immunitaire, la protection acquise va persister pour des durées variables, parfois pour toute l'existence. Elle ne vaudra parfois que pour des périodes limitées dans le temps : dans ce cas, des rappels de vaccination seront nécessaires. (Canouï, E., and O. Launay.,2019).

8.2 Mécanismes immunitaires

Le Covid-19 semble provoquer, chez de nombreux patients, une réponse immunitaire excessive, difficilement contrôlable, et qui peut même aller jusqu'à leur mort. Par ailleurs, le virus dispose de plusieurs moyens pour échapper ou éviter les réponses immunitaires : la réponse innée d'un côté, l'adaptative de l'autre. Le développement des différents vaccins nécessite d'identifier les antigènes que les anticorps pourraient neutraliser, ce qui éviterait à l'hôte humain la maladie. Le SARSCoV-2 dispose de quatre protéines structurales, dont la spicule, responsable de la fixation et de l'entrée du virus dans les cellules hôtes.

Toutes ces protéines sont candidates à être la cible d'un vaccin, mais le blocage de l'entrée du virus est la voie la plus prometteuse : si le virus ne peut se fixer sur la cellule et donc y entrer, il est nécessairement voué à s'étioler et à disparaître. Il s'ensuit que la plupart des

vaccins ont ciblé la protéine-spicule dite S, comme agent inducteur des anticorps qui vont neutraliser le virus et stimuler la réponse immunitaire adéquate de l'organisme. (Felsenstein S.,2020).

8.3- Différents vaccins

De nombreux types de vaccins sont déjà développés et qui ont été précommandés par l'Union européenne (tableau ci-dessous)

Tableau 3 : Les différents vaccins

Firme pharmaceutique	Technologie utilisée
Sanofi-GSK	Protéine recombinante
AstraZeneca	Vaccin vectorisé
Pfizer-BioNTech	ARN messenger
Moderna	ARN messenger
CureVac	ARN messenger
Janssen-Johnson & Johnson	ADN

Voyons à présent quelles sont les principales caractéristiques des différents vaccins utilisés au Maroc ainsi que leurs avantages ou désavantages éventuels. (Moser, Muriel, .2020).

8.3.1 AstraZeneca

-Le vaccin produit conjointement par AstraZeneca et l'Université d'Oxford se base, lui, sur la technologie du virus vectorisé. Il s'agit d'un virus ADN -appelé adénovirus- prélevé sur le chimpanzé. Par manipulation génétique, on lui a retiré les gènes qui lui permettraient de se dupliquer chez le sujet vacciné, de sorte qu'il est peu, voire pas du tout, offensif pour l'homme. Ces gènes sont alors remplacés par ceux du SARSCoV-2 codant pour la protéine S. Ce type de vaccin a aussi reçu le nom de vaccin vectorisé à virus incompetent pour la duplication (replication-incompetent vector vaccine).

8.3.2 Pfizer-BioNTech

Pfizer développé par CureVac est basé sur l'utilisation de l'ARN messenger. Le principe de ce vaccin est de fournir à la machinerie de la cellule-hôte l'élément qui lui permettra de synthétiser la protéine spicule S. Cet ARN messenger doit entrer dans la cellule et pour franchir cette étape indispensable, il est fourni sous forme d'une très petite particule, une nanoparticule, qui fusionne avec la membrane cellulaire. L'ARNm sera alors dupliqué dans

la cellule et traduit en la fameuse protéine S. Il devrait être ensuite rapidement éliminé par la même cellule.

Matériel et Méthodes

II - MATERIEL ET METHODES

1 - Population cible et échantillonnage

Les sujets inclus dans cette étude sont des sujets volontaires, qui ne présentent pas de symptômes. Ils sont issus des différentes régions de Fès. Au total 97 échantillons sous forme de sang veineux ont été prélevés au Laboratoire du Centre Biologie Maroc. Les échantillons sont analysés durant la période allant du 26 avril au 18 juin 2021.

2 - Phase analytique

2.1 Prélèvement

Les échantillons sont prélevés dans une salle dédiée aux patients du coronavirus 2. Le sang veineux est prélevé, par les infirmiers, dans un tube à bouchon rouge. Ce dernier ne contient aucun anti-coagulant, c'est-à-dire après centrifugation, nous obtenons du sérum. Il contient seulement un activateur de la coagulation (microparticules de silice).

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche d'identification qui comprend le nom du patient, le code-barre (numéro spécifique pour chaque patient) ou le numéro d'entrée, le sexe, la date de naissance, le service demandeur, la date de prélèvement et parfois des renseignements cliniques, ainsi que les analyses demandées.

Les prélèvements effectués à domicile ou d'autres laboratoires et cliniques doivent être acheminés au laboratoire dans les plus brefs délais possibles. Les délais d'acheminement ou les conditions de transport défavorables influencent la qualité des résultats.

- Centrifugation

Les flacons sont centrifugés 2 fois dans la centrifugeuse afin d'obtenir le culot qui se compose d'éléments figurés du sang et le sérum (la partie liquide) qui nous intéresse dans notre étude.

2.2Automate Mini Vidas : Objet et domaine d'application

Les échantillons ont été testés sur l'instrument *Mini Vidas*, Automate d'immunoanalyse compact, fabriqué par bioMérieux SA. Cet instrument de paillasse s'appuie sur la technologie éprouvée ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). La gamme d'instruments VIDAS utilise la technologie ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). Elle est basée sur un

concept du test unitaire et peut réaliser automatiquement toutes les étapes des analyses biologiques et ainsi détecter ou quantifier :

- Des antigènes ou toxines, témoins d'infection virale ou bactérienne,
- Des anticorps mesurant la réponse immunitaire à une infection,
- Différents marqueurs de pathologies comme le cancer, les maladies métaboliques ou les dysfonctionnements hormonaux.

Les analyses peuvent être lancées en série ou de manière individualisée.



Figure 12 : Automate Mini VIDAS utilisé dans nos analyses

2.2.1 – Présentation et matériel utilisé

L'appareil utilisé présente les paramètres suivants :

- Un écran d'affichage à cristaux liquide ; des touches de sélection servent à sélectionner l'une des 5 options pouvant apparaître à l'écran ; touches numériques utilisées pour entrer des nombres et sélectionner des entrées ; des bloc-cônes ; un compartiment des cartouches ; lecteur des codes-barres externe et une imprimante thermique.

2.2.2 Cartouche de réactifs simples



Figure 13 : Cartouche des réactifs que nous utilisons dans nos analyses

La cartouche est composée de 10 puits recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquetée. L'impression comporte un code-barre reprenant principalement le code du test, le numéro du lot et la date de péremption du coffre : - Les premiers puits où est placé l'échantillon, - Les huit puits de réactif (conjugué, diluant, tampon de lavage) et - Le dernier puit est la cuvette optique dans laquelle on mesure la fluorescence du substrat.

2.2.3 Description des bandes

La bande contient de la diéthanolamine et de l'azoture de sodium.

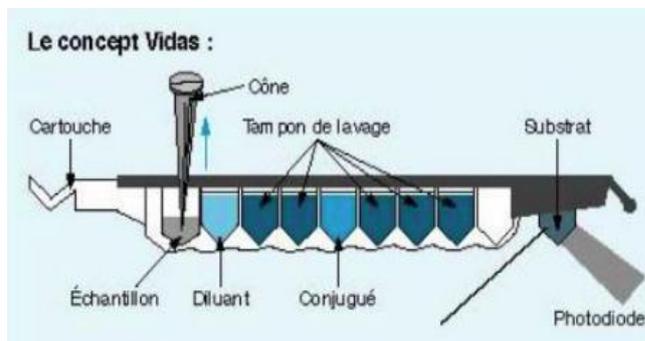


Figure 14 : Concept de la bande IgG et IgM

Tableau 4 : Différents réactifs de la bande IgG et IgM

Puits	Réactifs
1	Puits d'échantillon : distribuez 100 µl de norme de contrôle ou d'échantillons
2	Diluant d'échantillon : Tampon + détergent + stabilisant d'origine animale + conservateur
3-4-5	Tampon de lavage : Tampon + détergent + conservateur
6	Conjugué : AC non monoclonaux anti-Ig-G humains de souris conjugué à la phosphatase alcaline + stabilisateur d'origine animale
7-8	Tampon de lavage : Tampon + détergent + conservateur
9	Puits vide
10	Cuvette de lecture avec substrat : 4-méthylumbelliféryl-phosphate (0.6 mmol/L) + conservateur

2.2.4 – Cônes utilisés

Les cônes sont utilisés pour le pipetage des échantillons et des réactifs ainsi que pour effectuer les opérations suivantes : Echantillonnage ; Incubation ; Mélange et Lavage.

2.3 - Principe de la technique ELFA

Après l'étape de dilution de l'échantillon, l'IgG et l'IgM du SARS-CoV-2 sont capturés par l'antigène recombinant du SARS-Cov-2 revêtu à l'intérieur de la paroi du dispositif SPR. Les composants non liés sont éliminés lors des étapes de lavage.

Au cours de la deuxième étape, les IgG et les IgM sont spécifiquement détectés par des IgG et des IgM anti-humains marqués à la phosphatase alcaline. Au cours de l'étape de détection finale, le substrat (4-méthylumbelliféryl phosphatase) est cyclé dans et hors du dispositif SPR. L'enzyme conjuguée catalyse l'hydrolyse de ce substrat en un produit fluorescent (4-méthyl-umbelliféryl) dont la fluorescence est mesurée à 450 nm. L'intensité de la fluorescence est proportionnelle au niveau d'anticorps dans l'échantillon.

A la fin du test, les résultats sont automatiquement calculés par l'instrument selon la norme S1 stockée en mémoire et la valeur de test est obtenue. Les résultats peuvent ensuite être imprimés.

-Contenu du Kit

60 bandes 9 COG	STR	Prêt à l'emploi
60 réceptacles en phase solide (9 COG) 2×30	SPR	Prêt à l'emploi l'intérieur du dispositif SPR enduit de l'antigène recombinant du SARS-CoV2

Tableau 5 : les composants du kit de Test utilisé

2.4 - Etape de dosage et instructions d'utilisation

Le processus du dosage des 2 tests (IgG et IgM) se déroule en plusieurs étapes comme suit :

- Retirer le kit du stockage à 2°C et sortir les réactifs requis. Refermer soigneusement la poche SPR et remettre le kit à 2°C,
- Utiliser une bande et un dispositif SPR pour chaque échantillon à tester. S'assurer que la poche SPR a été soigneusement refermée après que les dispositifs SPR requis ont été enlevés,
- Le test est identifié par le code 9COG et 9COM sur l'instrument. La norme, identifiée par S1, doit être testée en double exemplaire. Les contrôles, identifiés par C1 et C2, doivent être testés individuellement,
- Avant de pipeter, s'assurer que les échantillons sont exempts de bulles,
- Fermer les flacons et les remettre à la température requise après le pipetage,
- Pour cet essai, La portion d'essai sur échantillon est de 100 µl,
- Insérer les dispositifs SPR (Les cônes) et les bandes dans l'instrument,
- Sélectionner ID échantillon, puis scanner le code barre,
- Lancer le dosage dans les 10 min après la distribution de l'échantillon,

- La réaction démarre : lampe témoin verte du compartiment s'allume,
- Le test sera terminé dans environ 27 min. Une fois le test terminé, la lampe témoin verte du compartiment clignote. Retirez les cônes et les bandes de l'instrument,
- Jeter les cônes et les bandes usagés dans un récipient approprié,
- Les résultats s'impriment automatiquement.

III - RESULTATS ET DISCUSSION

Une fois le test est terminé, les résultats sont analysés automatiquement, en utilisant des logiciels informatiques. La fluorescence est mesurée 2 fois dans la cuvette de lecture de la bande de réactif pour chaque échantillon testé.

La première lecture est une lecture de fond de la cuvette de substrat avant l'introduction du cône dans le substrat.

La deuxième lecture est effectuée après incubation du substrat avec l'enzyme qui peut être liée à l'intérieur du cône.

La RFV (Valeur relative de fluorescence) est calculée en soustrayant la lecture de fond du résultat final. Ce calcul apparaît sur la feuille de résultats.

Le RFV patient est interprété par le système Vidas comme suit :

$$\text{Valeur de test} = \text{RFV patient} / \text{RFV standard}$$

1. Lecture

Tableau 6 : L'interprétation des résultats IgG et IgM

Index	Interprétation
$i < 1.00$	Négatif
$i > 1.00$	Positif

Lors de notre étude (stage réalisé du 26 avril au 18 Juin 2021), nous avons pu obtenir des différents résultats de 97 sujets. Le tableau ci-dessous montre certains de nos résultats.

Tableau 7 : Résultats des tests IgG et IgM des patients

Demande	Date	Sexe	Date naiss.	Code	analyse	Résultat
2104260164	2021-04-26	F	23-08-1998	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif
2104260170	2021-04-26	F	20-04-1984	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Négatif
2104260263	2021-04-26	M	25-06-1968	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Positif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif
2104270095	2021-04-27	M	01-01-1970	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif
2104270218	2021-04-27	F	01-01-1989	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Négatif
2104280178	2021-04-28	F	01-01-1997	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif
2104290187	2021-04-29	M	01-01-1936	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Négatif
2104290035	2021-04-29	F	01-02-1984	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif
2104300140	2021-04-30	M	21-01-1932	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif
2105030081	2021-05-03	M	01-01-1962	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Positif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif
2105030025	2021-05-03	F	24-04-1970	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Positif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif
2105030079	2021-05-03	F	15-05-1974	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif

				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Négatif
2106050110	2021-06-05	F	01-01-1989	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Négatif
2106070286	2021-06-07	M	26-03-2008	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif
2106070238	2021-06-07	F	01-01-1972	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Négatif
2106080080	2021-06-08	F	08-06-1976	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Négatif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Négatif
2106090099	2021-06-09	M	14-04-1969	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Positif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif
2106090096	2021-06-09	F	23-04-1952	COVIDIgG_M_VIDAS[1]	IGM	Positif
				COVIDIgG_M_VIDAS[5]	IGG	Positif

2. Interprétation des résultats

Les résultats de nos analyses sont : IgG et IgM positifs ; IgG et IgM négatifs ; IgG négatif et IgM positif, et IgG positif et IgM négatif. Cette diversification au niveau des résultats peut être expliquée par de nombreux facteurs dont :

- **Si IgG et IgM sont négatifs, nous pouvons dire que :** Il est à noter qu'un minimum de 4 jours depuis le début des symptômes ou de 7 jours après l'exposition au virus sont nécessaires pour qu'apparaissent les anticorps comme positifs. Ceci signifie que le test des anticorps ne peut pas détecter une infection dans la phase initiale de la contagion. Si un doute d'infection récente existe, en dépit de ce résultat, un test de PCR peut être réalisé. Une autre option étant de refaire un test d'anticorps quelques jours plus tard.

- **Si IgG négatif et IgM positif :** Ce résultat suggère une infection dans la phase initiale de la maladie. Si le résultat ne coïncide pas avec la réalité clinique du patient (par exemple s'il n'y a pas de symptômes), il pourrait que ce soit un faux positif. Le résultat peut être confirmé par un test de PCR ou, s'il s'agissait d'un test rapide d'anticorps, par un test Elisa, qui est plus fiable/spécifique et qui utilise une méthode différente.

- **Si IgG positif et IgM négatif :** Il a une guérison de la maladie et le patient n'est plus infectieux. Un certain niveau d'immunité au Covid 19 est possible, bien qu'il n'est pas

possible d'affirmer dans quelle mesure ni pour combien de temps. Il est donc recommandé de continuer à être prudent.

- **Si IgG et IgM sont positifs** : Ce résultat suggère une infection dans la phase intermédiaire de la maladie. Il est probable que la possibilité d'infecter d'autres personnes soit basse.

De l'ensemble de nos résultats, il ressort que sur un total de 97 échantillons, il y a : 58 Femmes qui représentent un pourcentage de 59,79% et 39 hommes avec un pourcentage de 40,20%.

La répartition des résultats est donnée dans le tableau ci-dessous :

Tableau 8 : Résultats des IgG et IgM selon le sexe

Résultats		Femmes	Hommes
IgM	IgG		
Positif	Positif	15	10
Négatif	Négatif	26	18
Positif	Négatif	6	3
Négatif	Positif	12	8

Il est à souligner que les anticorps apparaissent dès 5-6 jours après les premiers symptômes et ils possèdent une activité neutralisante dès 7-14 jours. Ce délai est probablement plus long chez les personnes paucisymptomatiques (avec peu de symptômes) ou asymptomatiques (aucun symptôme), et les titres (concentrations) d'anticorps plus faibles.

CONCLUSION GENERALE

Les données des analyses, actuellement disponibles, indiquent que l'infection par le SARS-CoV-2 s'accompagne d'une réponse anticorps essentiellement de type IgM et IgG. Le taux de séroconversion chez les patients symptomatiques est élevé avec un pic à J14. Chez les patients moins symptomatiques, le pic d'anticorps semble décalé.

Si la réponse anticorps est dirigée contre de nombreuses protéines, la réponse neutralisante semble essentiellement dirigée contre la protéine spike. On retrouve une bonne corrélation entre le dépistage des anticorps en ELISA et une activité neutralisante. La spécificité des anticorps semble élevée et aucune réactivité croisée n'a été retrouvée avec des infections avec des coronavirus banals, alors qu'elle existe dans le cadre d'une infection passée par le SARS-CoV-2. Les facteurs corrélés positivement au pourcentage de séroconversion et au taux d'anticorps sont la sévérité de la maladie, l'âge et le sexe féminin.

Nous pouvons conclure que les enquêtes sérologiques semblent le meilleur outil pour déterminer la propagation d'une maladie infectieuse, en particulier en présence de cas asymptomatiques ou de constatation incomplète de ceux qui présentent des symptômes. Les tests sérologiques sont destinés à identifier les personnes ayant développé une immunité contre le SARS-Cov-2. Les patients atteints de Covid-19 produisent des anticorps neutralisants et des anticorps dirigés contre la protéine de surface Spike spécifiques du SARS-CoV-2 avant le 15ème jour de l'infection. Le niveau d'anticorps IgM commence à augmenter environ une semaine après l'infection initiale. Les IgG apparaissent plus tard que les IgM (généralement dans les 14 jours suivant l'infection).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A. Bahrami et G. A. Ferns, « Genetic and pathogenic characterization of SARS-CoV-2: a review », *Future Virol.*, vol. 15, no 8, p. 533- 549, 2020.
- Bryan A., et al. (2020). Performance Characteristics of the Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG Assay and Seroprevalence in Boise, Idaho. *Journal of Clinical Microbiology* 07.
- Canoui, E., and O. Launay. (January 2019) “Histoire et principes de la vaccination.” *Revue des Maladies Respiratoires*.
- Castro, COVID-19 : a meta-analysis of diagnostic test accuracy of commercial assays registered in Brazil *The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brasília Society of Infectious Diseases* 2020.
- Cheng, C. Y., Lee, Y. L., Chen, C. P., Lin, Y. C., Liu, C. E., Liao, C. H., & Cheng, S. H. (2020). Lopinavir/ritonavir did not shorten the duration of SARS CoV-2 shedding in patients with mild pneumonia in Taiwan. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, 53(3), 488–492.
- Cui, J., Li, F., & Shi, Z. L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature reviews. Microbiology*, 17(3), 181–192.
- C. S. G. of the International, « The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus : classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2 », *Nat. Microbiol.*, vol. 5, no 4, p. 536, 2020.

- Delanghe J. R., Speeckaert M., De Buyzere M., The Host's Angiotensin-Converting Enzyme Polymorphism May Explain Epidemiological Findings in COVID-19 Infections. *Clin Chim Acta*. 2020 ; 505 :192-193.
- E. Petersen et al., « Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics », *Lancet Infect. Dis.*, 2020.
- Jääskeläinen A J, et al Evaluation of commercial and automated SARS-CoV-2 IgG and IgA ELISA using coronavirus disease (COVID-19) patient samples. *Eurosurveillance* 25.
- Felsenstein S, Herbert JA, McNamara PS, Hedrich CM. COVID-19 : Immunology and treatment options. *Clinical Immunology* 2020, 215 : 108448.
- Fung, T. S., & Liu, D. X. (2019). Human coronavirus : host-pathogen interaction. *Annual review of microbiology*, 73, 529-557.
- Haute Autorité de Santé. Place des tests sérologiques dans la stratégie de prise en charge de la maladie COVID-19. 1er mai 2020. www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2020-05/rapport-indications-tests-serologiques-covid-19.
- « <https://www.coronavirus-statistiques.com/stats-pays/coronavirus-nombre-de-casmaroc/> », jui. 14, 2020
- Leitner T, Albert J. The molecular clock of HIV-1 unveiled through analysis of a known transmission history. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999 ;96.
- Li Y, Yao L, Li J et al. Stability issues of RT-PCR testing of SARSCoV-2 for hospitalized patients clinically diagnosed with Covid-19. *J Med Virol*. 2020 ; 1-6.
- S. Kannan, P. S. S. Ali, A. Sheeza, et K. Hemalatha, « COVID-19 (Novel Coronavirus 2019) recent trends », *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, vol. 24, no 4, p. 2006- 2011, 2020.
- Scott F. W. (1999). Evaluation of risks and benefits associated with vaccination against coronavirus infections in cats. *Advances in veterinary medicine*, 41, 347–358.
- Shen B, Zheng Y, Zhang X, Zhang W, Wang D, et al. Clinical evaluation of a rapid colloidal gold immunochromatography assay for SARS-Cov-2 IgM/IgG. *American journal of translational research* 2020 ; 12(4) Pages : 1348-1354.
- S. P. Adhikari et al., « Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review », *Infect. Dis. Poverty*, vol. 9, no 1, p. 1- 12, 2020.
- Wuhan Municipal Health Commission. Report of novel coronavirus-infected pneumonia in China : Published January 20, 2020. Accessed January 31, 2020.

- Woo, P. C., Huang, Y., Lau, S. K., & Yuen, K. Y. (2010). Coronavirus genomics and bioinformatics analysis. *Viruses*, 2(8), 1804–1820.
- Woo, P. C., Lau, S. K., Lam, C. S., Lau, C. C., Tsang, A. K., Lau, J. H., Bai, R., Teng, J. L., Tsang, C. C., Wang, M., Zheng, B. J., Chan, K. H., & Yuen, K. Y. (2012).
- World Health Organisation, « Coronavirus disease (COVID-19) advice for the public ».
- Xie J, Ding C, Li J, Wang, Guo H, et al. Characteristics of Patients with Coronavirus Disease (COVID-19) Confirmed using an IgM-IgG Antibody Test. *Journal of medical virology* 2020.
- Y.-F. Tu et al., « A review of SARS-CoV-2 and the ongoing clinical trials », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, no 7, p. 2657, 2020.

