



OFFICE PARLEMENTAIRE D'ÉVALUATION
DES CHOIX SCIENTIFIQUES ET TECHNOLOGIQUES

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
LIBERTÉ – ÉGALITÉ – FRATERNITÉ

Le 30 mars 2020

Note à l'attention des membres de l'Office

Epidémie de coronavirus – Point sur les traitements, vaccins et moyens de dépistage

Cette note a été présentée en réunion de l'Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques le 27 mars 2020, par son premier vice-président, le député Cédric Villani, et a été mise à jour le 30 mars 2020 et validée pour publication.

Deux sujets au cœur de l'actualité en lien avec la crise sanitaire sont détaillés dans cette note :

– Le premier est celui des **traitements** à administrer aux malades du COVID-19, aucun traitement spécifique de la maladie n'existant à ce jour. De nombreux **médicaments**, développés pour d'autres maladies, seraient susceptibles d'aider le système immunitaire des patients gravement atteints à combattre l'infection. Les **vaccins**, moins médiatisés car leur disponibilité s'inscrit dans un horizon plus lointain, sont aussi au cœur de travaux de recherche pour leur intérêt en prévention ;

– Le deuxième est celui des **tests de dépistage** de la maladie. Ces tests peuvent être séparés en deux catégories : les **tests diagnostiques**, qui visent à identifier la présence du virus SARS-CoV-2 dans un échantillon biologique, et les **tests sérologiques**, qui visent à connaître le statut d'une personne vis-à-vis du virus : immunisé ou naïf.

Traitements et vaccins

Les traitements

En l'absence de traitement spécifique pour cette maladie, les médecins et les autorités sanitaires étudient l'intérêt de médicaments déjà utilisés à l'hôpital ou en ville, pour d'autres infections, c'est ce qu'on appelle le « repositionnement de médicament ». Il s'agit d'une

approche compassionnelle, encadrée par l'article L. 3131-3¹ du code de la santé publique, permettant d'utiliser un médicament en dehors du cadre dans lequel il a obtenu une autorisation de mise sur le marché.

Les traitements envisagés, à l'étude ou déjà utilisés en clinique, sont des **antiviraux**, qui ciblent différentes phases de l'infection des cellules ou de la prolifération des particules virales dans les cellules, voire des antirétroviraux, spécifiques des virus à ARN.

D'autres stratégies sont également explorées, notamment celle des **immunothérapies** modulant la réponse immunitaire, qui ont pour objectif de diminuer l'inflammation que le virus provoque. Cette inflammation peut en effet s'avérer dramatique lorsqu'elle provoque une libération massive de messages alertant le système immunitaire, ce qu'on qualifie de « tempête cytokinique » et qui est observée dans certains cas graves de COVID-19 mais aussi de grippe. Néanmoins, la pertinence des anti-inflammatoires dans le COVID-19 est débattue et qualifiée d'épée à double-tranchant, car diminuer les capacités du système immunitaire d'un patient gravement atteint peut aussi diminuer ses chances de combattre l'infection².

Les traitements qui ont été utilisés ou qui sont envisagés sont :

– Le **remdesivir**, un antiviral qui a fait l'objet d'un développement clinique dans le cadre de la maladie à virus Ebola, qui a été utilisé sur les virus SARS-CoV et MERS-CoV avec de bons résultats *in vitro* et sur modèles animaux (diminution de la charge virale, amélioration des fonctions respiratoires). Son efficacité sur le virus SARS-CoV2 a été démontrée *in vitro*³. Le remdesivir est utilisé comme inhibiteur de l'ARN polymérase virale, une des enzymes nécessaires à la réplication du virus au sein des cellules humaines.

– L'association des antirétroviraux **lopinavir** et **ritonavir**, utilisée dans le traitement de l'infection à VIH, un autre virus à ARN. Ils peuvent être utilisés en association avec l'antiviral interféron bêta. Il existe des données sur l'efficacité de ces deux associations sur SARS-CoV et MERS-CoV *in vitro* et sur modèles animaux⁴. Le lopinavir est un inhibiteur des protéases virales, des enzymes qui permettent l'assemblage des virus se répliquant au sein des cellules humaines. Le ritonavir est utilisé pour inhiber l'enzyme humaine responsable de la dégradation du lopinavir, c'est pourquoi ils sont administrés en association.

– La **chloroquine**, et son dérivé, l'hydroxychloroquine, non retenus initialement par l'OMS comme de potentiels traitements, ont été reconsidérés après que des expériences *in vitro* ont montré leur efficacité sur le virus⁵. Ce sont des antipaludiques utilisés également dans le traitement de maladies autoimmunes (lupus et polyarthrite rhumatoïde). Ces molécules auraient un effet antiviral à large spectre par le changement de conditions cellulaires qu'elles entraînent, devenant défavorables à l'infection de la cellule par la particule virale ;

1 Nonobstant les dispositions de l'article L. 1142-1, les professionnels de santé ne peuvent être tenus pour responsables des dommages résultant de la prescription ou de l'administration d'un médicament en dehors des indications thérapeutiques ou des conditions normales d'utilisation prévues par son autorisation de mise sur le marché ou son autorisation temporaire d'utilisation, ou bien d'un médicament ne faisant l'objet d'aucune de ces autorisations, lorsque leur intervention était rendue nécessaire par l'existence d'une menace sanitaire grave et que la prescription ou l'administration du médicament a été recommandée ou exigée par le ministre chargé de la santé en application des dispositions de l'article L. 3131-1.

2 Ritchie et Singanayagam, 2020, The Lancet

3 « COVID-19 : prise en charge des cas confirmés ». Haut Conseil de la Santé Publique, 5 mars 2020.

<https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=771>.

4 « COVID-19 : prise en charge des cas confirmés ». Haut Conseil de la Santé Publique, 5 mars 2020.

<https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=771> ; <https://www.sciencemag.org/news/2020/03/who-launches-global-megatrial-four-most-promising-coronavirus-treatments>

5 Wang *et al.* « Remdesivir and Chloroquine Effectively Inhibit the Recently Emerged Novel Coronavirus (2019-NCoV) in Vitro ». *Cell Research* 30, n° 3 (mars 2020): 269-71. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0282-0>.

- D’autres antiviraux, tels que l’umifenovir, utilisé dans le traitement de la grippe en Russie et en Chine, et le favipiravir, qui fut testé dans le cadre des infections à virus Ebola⁶ ;
- La sérothérapie à base du sérum de patients guéris de la maladie ou en convalescence, pour faire bénéficier de nouveaux patients des anticorps développés spécifiquement contre le virus par ces anciens patients⁷ ;
- Des anticorps immunosuppresseurs, telles que Tocilizumab ou Camrelizumab⁸ ;
- Des thérapies à base de transplantation de cellules souches mésenchymateuses, pour leurs propriétés immunosuppressives⁹ ;
- Des antibiotiques, si des co-infections apparaissent dans le cadre de la pneumonie liée au COVID-19.

Essais cliniques en cours

L’essai clinique est une étape nécessaire à la validation d’une thérapie, dans le traitement d’une maladie. Il permet de s’assurer de l’innocuité de la thérapie, d’estimer la posologie la mieux adaptée, d’évaluer son efficacité absolue ainsi que son efficacité en comparaison d’autres thérapies. La méthodologie suivie par l’essai conditionne la rigueur scientifique de ses conclusions. Le type d’essai le plus rigoureux, dont les conclusions sont les plus scientifiquement fondées, est l’**essai randomisé en double aveugle**, dans lequel la répartition des patients entre les groupes contrôle et tests se fait aléatoirement et dans lequel ni le patient ni le soignant ne savent si le traitement administré au patient est le traitement testé ou le contrôle. Cette méthodologie protège des biais tels que l’effet placebo ou la répartition biaisée des patients dans les différents groupes.

De très nombreux essais cliniques ont été démarrés, la majorité en Chine¹⁰. En particulier en France, un essai européen, nommé « **DisCoVeRy** », démarre sous le pilotage du réseau REACTing¹¹ et de Florence Ader, infectiologue aux Hospices civils de Lyon et chercheuse Inserm. Il inclura à terme 3200 patients, dont 800 en France, et impliquera des CHU à Paris, Lyon, Lille, Nantes et Strasbourg. Il vise à examiner l’intérêt de quatre thérapies : remdesivir, lopinavir/ritonavir, lopinavir/ritonavir/interferon bêta et hydroxychloroquine (un premier essai

6 Belhadi *et al.* « A Brief Review of Antiviral Drugs Evaluated in Registered Clinical Trials for COVID-19 ». *MedRxiv*, 20 mars 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.18.20038190>.

7 Zhang, *et al.* « Clinical Trial Analysis of 2019-NCov Therapy Registered in China ». *Journal of Medical Virology* n/a, n° n/a. Consulté le 23 mars 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25733>.

8 Zhang, *et al.* « Clinical Trial Analysis of 2019-NCov Therapy Registered in China ». *Journal of Medical Virology* n/a, n° n/a. Consulté le 23 mars 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25733>.

9 Les cellules souches mésenchymateuses sont des cellules souches qui donnent de nombreux types cellulaires, comme les chondrocytes et les ostéoblastes, les cellules du cartilage et des os, ou encore les myocytes, les cellules musculaires. Leur transplantation par voie intraveineuse a été évaluée positivement à plusieurs reprises dans un objectif immunosuppresseur, mais il semble que la communauté scientifique ne soit pas unanime à leur sujet. A noter, leur transplantation en intraveineuse induit une rétention au niveau des poumons, ce qui apparaît stratégique ici. Ménard, Cédric, et Karin Tarte.

« Immunosuppression et cellules souches mésenchymateuses: Mieux comprendre une propriété thérapeutique majeure ». *médecine/sciences* 27, n° 3 (mars 2011): 269-74. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011273269> ; Zikuan, *et al.*

« Transplantation of ACE2 Mesenchymal Stem Cells Improves the Outcome of Patients with COVID-19 Pneumonia ». *Aging and Disease* 11, n° 2 (13 mars 2020): 216-28. <https://doi.org/10.14336/AD.2020.0228>.

10 Belhadi *et al.* « A Brief Review of Antiviral Drugs Evaluated in Registered Clinical Trials for COVID-19 ». *MedRxiv*, 20 mars 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.18.20038190> ; Zhang, *et al.* « Clinical Trial Analysis of 2019-NCov Therapy Registered in China ». *Journal of Medical Virology*. Consulté le 23 mars 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25733>.

11 <https://reacting.inserm.fr/>

clinique mené en Chine sur des patients COVID-19 n'a pas montré d'efficacité de l'association lopinavir/ritonavir¹², mais il concernait un petit nombre de patients).

Huit millions d'euros ont été débloqués par la France pour cet essai, auquel l'UE contribue à hauteur de 4,6 millions d'euros. Il s'agit d'un essai randomisé mais ouvert, c'est-à-dire que les soignants et patients savent quel traitement est administré. L'efficacité des traitements sera évaluée au fur et à mesure de l'essai, afin de pouvoir arrêter sans délai une des stratégies si elle ne se révélait pas efficace. Etant donné que l'amélioration des symptômes sera évaluée au 15^e jour d'hospitalisation, des résultats préliminaires pourraient être révélés à partir de mi-avril¹³.

Un autre essai de grande envergure, nommé « **Solidarity** », mené dans dix pays¹⁴, dont la France, piloté par l'OMS, comparera les quatre pistes les plus prometteuses, les mêmes que l'essai Discovery, et dans les mêmes conditions.

L'essai mené par le Pr. Didier Raoult à Marseille et fortement relayé dans les médias, sur l'efficacité de l'hydroxychloroquine¹⁵, consiste en un essai non randomisé en mode ouvert, c'est-à-dire que le patient et le soignant savent si le patient reçoit le traitement contrôle ou le traitement testé. L'essai n'est pas suffisamment rigoureux scientifiquement pour systématiser la prescription d'hydroxychloroquine, mais cette stratégie va être davantage examinée dans les essais Discovery et Solidarity, ainsi que dans d'autres essais cliniques, en Chine¹⁶ et aux Etats-Unis¹⁷. Les résultats d'un premier essai en Chine, sur un petit nombre de patients également, ne montrent pas d'intérêt de l'hydroxychloroquine dans le traitement du COVID-19¹⁸.

La médiatisation des résultats préliminaires du Pr. Raoult a suscité un engouement et un achat massif de Paquenil® (hydroxychloroquine), disponible sans ordonnance jusqu'au 15 janvier 2020¹⁹, jusqu'à épuisement des stocks de nombreuses pharmacies, alors que des patients atteints de lupus ou de polyarthrite rhumatoïde en ont besoin quotidiennement. Parce que la prise d'hydroxychloroquine sans suivi médical est potentiellement dangereuse, le ministère des solidarités et de la santé a encadré plus strictement les spécialités à base d'hydroxychloroquine, limitant son utilisation aux cas graves de COVID-19²⁰. Les Académies nationales de médecine et de pharmacie ont également exprimé des réserves à ce sujet²¹.

12 Cao, *et al.* « A Trial of Lopinavir–Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19 ». *New England Journal of Medicine*, 18 mars 2020. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001282>.

13 <https://www.inserm.fr/actualites-et-evenements/actualites/covid-19-demarrage-essai-clinique-discovery>

14 Les pays participant à l'essai sont, en date du 26 mars 2020, l'Afrique du Sud, l'Argentine, le Bahreïn, le Canada, l'Espagne, la France, l'Iran, la Norvège, la Suisse et la Thaïlande ; <https://www.who.int/thailand/news/detail/20-03-2020-thailand-joins-the-who-solidarity-trial-global-testing-of-effective-treatments-of-covid-19-across-8-countries-an-aggressive-effort-to-save-lives-from-the-pandemic>.

15 Gautret, *et al.* « Hydroxychloroquine and Azithromycin as a Treatment of COVID-19: Results of an Open-Label Non-Randomized Clinical Trial ». *International Journal of Antimicrobial Agents*, mars 2020, 105949. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105949>.

16 Zhang, *et al.* « Clinical Trial Analysis of 2019-NCov Therapy Registered in China ». *Journal of Medical Virology* n/a, n° n/a. Consulté le 23 mars 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25733>.

17 <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/therapeutic-options.html>

18 Chen, *et al.* « A pilot study of hydroxychloroquine in treatment of patients with common coronavirus disease-19 (COVID-19) ». *Journal of Zhejiang University (Medical Science)* 49, n° 1 (6 mars 2020): 0-0. <https://doi.org/10.3785/j.issn.1008-9292.2020.03.03>.

19 Arrêté du 13 janvier 2020 portant classement sur les listes des substances vénéneuses.

20 Décret n° 2020-314 du 25 mars 2020 complétant le décret n° 2020-293 du 23 mars 2020 prescrivant les mesures générales nécessaires pour faire face à l'épidémie de covid-19 dans le cadre de l'état d'urgence sanitaire, 2020-314 § (2020).

21 <http://www.academie-medecine.fr/wp-content/uploads/2020/03/20.3.26-Communiqu%C3%A9-Anm-AnP-Chloroquine.pdf>

Les vaccins

D'après l'OMS, il y a actuellement 44 projets de vaccins menés par des équipes de recherche institutionnelles et privées dans le monde²². Un vaccin permettrait aux populations d'atteindre un seuil d'immunisation supérieur au seuil d'immunité grégaire, ou « de groupe », empêchant ainsi la maladie de se propager de façon épidémique.

Contrairement aux traitements évoqués précédemment, qui ont été développés dans le cadre d'autres maladies, aucun vaccin préexistant ne peut être utilisé contre le SARS-CoV2. Le temps de la recherche et du développement de ces vaccins s'additionne donc à celui du test de leur efficacité et de leur innocuité ; c'est la raison pour laquelle on ne peut imaginer de vaccin disponible avant 12 à 18 mois. Certains vaccins, qui étaient actuellement en cours de développement contre d'autres maladies, ont servi de base à la construction d'un nouveau vaccin, spécifique du SARS-Cov2.

Actuellement, deux projets de vaccin ont commencé à être inoculés à l'homme dans le cadre d'essais cliniques ; les autres sont ou rentreront prochainement en étude préclinique, c'est-à-dire en phase de test sur animaux de laboratoire avant le début d'essais chez l'homme.

Une équipe de l'Institut Pasteur, en collaboration avec le centre de recherche sur les vaccins de l'Université de Pittsburg et la biotech autrichienne Themis, a lancé des essais précliniques (sur l'animal) pour un vaccin dérivé du vaccin contre la rougeole. Ce dernier est en effet un virus atténué mais vivant et, pour cette raison, il induit une immunité sur le long terme. Les chercheurs ont incorporé un fragment d'ADN du SARS-CoV-2 au vaccin contre la rougeole afin que celui-ci présente des antigènes de surface – des protéines situées à la surface du virus – correspondant à ceux du SARS-CoV2, permettant à l'organisme recevant le vaccin modifié de s'immuniser contre le nouveau coronavirus²³. On parle de vaccin recombinant ; cette technique est déjà utilisée pour d'autres vaccins, notamment le vaccin contre la dengue Dengvaxia® qui utilise un vaccin contre la fièvre jaune modifié²⁴.

Au Royaume-Uni, un vaccin à ADN est en cours d'essai. Contrairement à la stratégie classique qui consiste à inoculer directement le virus entier inactivé ou une protéine virale isolée, celle du vaccin à ADN repose sur l'injection d'un fragment d'ADN viral²⁵, le fragment codant pour la protéine Spike, celle qui est responsable de l'aspect en couronne du coronavirus. L'objectif est que les cellules de l'organisme, à partir de cet ADN viral, synthétisent la protéine et que cela provoque une réaction immunitaire contre celle-ci. Un virus, non pathogène, est utilisé comme vecteur, pour que l'ADN viral pénètre les cellules humaines. D'autres vaccins de ce type avaient commencé à être testés dans le cadre du MERS, une autre maladie à coronavirus²⁶.

La biotech Moderna, aux Etats-Unis, en collaboration avec le National Institute of Allergy and Infectious Diseases, a conçu un vaccin à ARN nommé « mRNA-1273 ». La stratégie consiste à inculquer des ARN messagers, le produit intermédiaire d'expression de

22 <https://www.who.int/blueprint/priority-diseases/key-action/novel-coronavirus-landscape-ncov.pdf?ua=1>

23 Zuniga, *et al.* « Attenuated Measles Virus as a Vaccine Vector ». *Vaccine* 25, n° 16 (20 avril 2007): 2974-83. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.01.064>.

24 <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/dengvaxia>

25 Les coronavirus étant des virus à ARN – c'est-à-dire que l'ARN est le support de leur information génétique, et pas l'ADN, de l'ADN viral est reconstitué in vitro pour être incorporé au vaccin.

26 Modjarrad, *et al.* « Safety and Immunogenicity of an Anti-Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus DNA Vaccine: A Phase 1, Open-Label, Single-Arm, Dose-Escalation Trial ». *The Lancet Infectious Diseases* 19, n° 9 (1 septembre 2019): 1013-22. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30266-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30266-X).

l'information génétique²⁷, dans les cellules humaines, par le biais de nanogouttes de lipides. L'objectif est que la machinerie cellulaire produise des protéines Spike virales à partir de ces ARN messagers, et que l'organisme s'immunise contre celle-ci. Le vaccin est entré dans un essai clinique en phase I, c'est-à-dire que son innocuité et sa capacité à induire une réponse immunitaire sont examinées chez 45 volontaires²⁸.

La biotech Inovio, elle, mise sur une technologie déjà utilisée en recherche mais dont l'utilisation pour la vaccination est récente. Le but est là encore d'inoculer de l'ADN viral afin que les cellules humaines synthétisent la protéine, mais ce n'est pas par le biais d'un virus vecteur que les fragments d'ADN pénètrent les cellules, mais d'une technique, « l'électroporation », qui déstabilise les membranes cellulaires, localement, pour que les cellules incorporent les fragments d'ADN injectés en sous-cutané.

Finalement, d'autres équipes de recherche et laboratoires pharmaceutiques travaillent aussi à des vaccins plus classiques, comportant directement la protéine virale Spike.

Quelques scientifiques émettent des réserves sur l'utilité de consacrer de grands moyens sur la recherche d'un vaccin. En effet, il est difficile de savoir aujourd'hui si le virus circulera toujours dans les années à venir. Bruno Canard, chercheur en virologie spécialiste des virus à ARN, estime que les coronavirus responsables du SARS, au MERS et au COVID-19, sont suffisamment proches pour que des traitements spécifiquement soient développés contre cette famille de virus. Selon lui, cela éviterait de développer un vaccin qui serait spécifique d'un virus et inutile contre un autre virus, qui pourrait émerger plus tard²⁹. Néanmoins, plusieurs des vaccins étudiés sont des vaccins très proches de vaccins déjà développés, dont certains l'ont été pour faire face à d'autres coronavirus. Ils ne nécessitent donc pas autant de recherche en amont qu'un vaccin classique, élaboré à base du virus contre lequel l'on cherche à s'immuniser.

Nombre des vaccins actuellement en phase de test sont des vaccins à ARN, un type de vaccin sur lequel beaucoup d'espoirs se sont fondés dans les vingt dernières années mais qui n'a jamais réussi à démontrer à la fois son efficacité et son innocuité chez l'homme. Ces deux points pourraient être prochainement résolus par la meilleure compréhension des interactions entre les ARN inoculés et l'immunité innée. Cependant, le besoin de trouver un vaccin immunisant contre le SARS-CoV-2 étant pressant, il est probable que des vaccins plus classiques fassent preuves de leur efficacité plus rapidement.

Moyens de dépistage

La RT-PCR, méthode privilégiée de diagnostic

Les seuls moyens de détecter le virus SARS-CoV-2 dans des échantillons biologiques disponibles à ce jour reposent sur une amplification d'un fragment spécifique du génome viral. Cette technique est privilégiée, car c'est une technique très répandue dans le monde, maîtrisée depuis plusieurs décennies.

- La RT-PCR (*Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*, ou « réaction en chaîne par polymérase après transcription inverse ») consiste, à partir d'un échantillon biologique

27 L'information génétique se trouve sous forme d'ADN, dans le noyau des cellules. Pour qu'un gène s'exprime, il est d'abord transcrit en ARN messager, une sorte de copie du gène, mais mobile dans la cellule. A partir de l'ARN messager, une protéine est synthétisée dans la cellule.

28 <https://www.nih.gov/news-events/news-releases/nih-clinical-trial-investigational-vaccine-covid-19-begins>

29 https://lejournald.cnrs.fr/articles/la-science-fondamentale-est-notre-meilleure-assurance-contre-les-epidemies?utm_term=Autofeed&utm_medium=Social&utm_source=Twitter#Echobox=1584122907

complexe et peu abondant (issu par exemple d'un prélèvement nasopharyngé ou oropharyngé, ou d'un fluide de lavage bronchoalvéolaire), à tenter de multiplier à grande échelle (« amplifier ») une séquence déterminée du matériel génétique du virus de façon à en obtenir rapidement une quantité importante et exploitable, permettant de caractériser sa présence ou son absence dans l'échantillon, donc chez l'individu. La technique repose sur :

- la « transcription inverse » de l'ARN viral, de façon à fabriquer son ADN complémentaire (ADNc), que l'enzyme réalisant la PCR pourra amplifier ; c'est donc l'ADNc qui fera l'objet de la PCR à proprement parler ;

- la détermination d'une séquence du génome viral à amplifier, spécifique de ce virus, dénommée « amplicon », dont le début et la fin sont marqués sur l'ADNc par deux séquences de nucléotides appelées « amorces » ;

- la réalisation du milieu réactionnel de la PCR, qui doit contenir : l'ADNc (qui va servir de matrice initiale), les amorces, les dNTP (« briques » élémentaires constitutives de l'ADN, qui portent les nucléotides A, T, C et G) et une enzyme de type « ADN-polymérase » qui va recopier l'amplicon en assemblant les dNTP les uns aux autres ;

- la répétition de cycles thermiques, chaque température correspondant à l'une des étapes nécessaires à l'amplification ; l'amplification se fait sur un mode exponentiel : dès le dixième cycle, les fragments d'ADN correspondant à l'amplicon représentent près de 98 % de l'ensemble du matériel génétique présent dans le milieu réactionnel.

Plusieurs institutions, dont l'Institut Pasteur, ont partagé avec la communauté internationale les protocoles qu'elles ont élaborés ; l'OMS les recense sur son site Internet³⁰. Des laboratoires universitaires, des services de santé publique ou des sociétés commerciales ont également développé des protocoles et, désormais, les kits de réactifs qui permettent de les mettre en œuvre dès lors qu'un laboratoire de biologie dispose de l'équipement nécessaire (notamment le thermocycleur). Le 29 février, la Food and Drug Administration a publié de nouvelles règles relatives à l'autorisation en situation d'urgence de tests de dépistage autres que ceux effectués et distribués par les Centers for Disease Control and Prevention des États-Unis ; au 20 mars, une cinquantaine d'organismes américains publics ou privés ont reçu de telles autorisations (Roche Molecular Systems, Thermo Fisher Scientific, Abbott Laboratories, University of Pittsburgh Medical Center, etc.)³¹.

La PCR est un moyen très performant de diagnostic direct des maladies infectieuses ou parasitaires, notamment dans les phases précoces de l'infection. Cette technique a des seuils de détection très bas : la présence de quelques copies de génome viral peut donner naissance en deux ou trois heures à plusieurs milliards de fragments identiques. L'efficacité du processus dépend de plusieurs éléments, constitutifs du protocole de RT-PCR :

- le choix de l'amplicon : la séquence (gène ou portion de gène) dont l'amplification est recherchée doit être spécifique du virus, mais pas trop longue car la durée d'un cycle thermique dépend de la longueur de l'amplicon ; il est par ailleurs conseillé de cibler dans un

30 WHO, « Coronavirus disease (COVID-19) technical guidance: Laboratory testing for 2019-nCoV in humans » (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance>).

31 Robert F. Service, « The standard coronavirus test, if available, works well — but can new diagnostics help in this pandemic ? », Science, 22 mars 2020 (<https://www.sciencemag.org/news/2020/03/standard-coronavirus-test-if-available-works-well-can-new-diagnostics-help-pandemic>)

même test deux séquences différentes ;

– la détermination des proportions optimales de réactifs ;

– la détermination précise du cycle thermique (température et durée de chaque phase) et le nombre total de cycles nécessaire (en général, de 30 à 50).

– La présence d'« inhibiteurs de PCR » car la technique repose sur des réactions complexes. Elle peut donc facilement être perturbée par la présence dans les échantillons de substances qui peuvent inhiber le processus, par la détérioration d'un réactif, par le dysfonctionnement du thermocycleur ou du système de révélation.

L'efficacité de la méthode de dépistage dépend aussi de l'endroit où est prélevé l'échantillon³² :

– pour le SRAS-CoV (responsable de la crise de 2003) et le MERS-CoV (apparu en 2012 au Moyen-Orient), il a été montré que les échantillons prélevés dans les voies respiratoires inférieures telles que les expectorations et les sécrétions trachéales ont une charge virale plus élevée et plus durable que celle des voies respiratoires supérieures. De ce fait, une prise d'échantillon dans le nez ou la gorge peut avoir une charge virale trop faible et entraîner un faux négatif lorsque le cas est peu sévère ; cette caractéristique pourrait être retrouvée dans le cas du SARS-CoV-2, très similaire au SARS-CoV³³ ;

– une étude récente suggère que les meilleurs échantillons sont ceux issus des expectorations, suivis de ceux issus des écouvillonnages nasaux, tandis que les écouvillonnages de la gorge semblent moins appropriés ; pour les cas sévères, le fluide de lavage bronchoalvéolaire permet à coup sûr une détection, au contraire des prélèvements nasopharyngés ou oropharyngés, mais c'est l'inverse pour les cas peu sévères³⁴.

Il semble donc que le type de prélèvement le plus approprié dépende du stade ou de la gravité de l'infection, ce qui ne facilite pas l'opération lorsqu'il faut justement dépister sur une suspicion de contamination.

Tous ces facteurs peuvent déboucher sur un « faux négatif » : un échantillon en fait positif n'est pas détecté comme tel. Un faux négatif peut conduire à ne pas donner au patient les soins que son état requiert³⁵ ou à laisser croire à tort qu'un patient convalescent remplit les critères permettant une sortie de l'établissement de soins ou une fin de quarantaine³⁶. Cet inconvénient majeur doit être considéré avec une grande attention dans la perspective d'un développement du dépistage en population générale pour la sortie du confinement.

32 Les développements qui suivent sont tirés d'une veille scientifique réalisée par la Saw Swee Hock School of Public Health (Singapour), à date du 19 mars 2020 (<https://sph.nus.edu.sg/covid-19>)

33 Kelly-Cirino, *et al.* « An Updated Roadmap for MERS-CoV Research and Product Development: Focus on Diagnostics ». *BMJ Global Health* 4, n° Suppl 2 (2019): e001105. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2018-001105> ;Public Health Laboratory Network (2020), « PHLN guidance on laboratory testing for 2019-nCoV 2020 », janvier 2020 (<https://www.health.gov.au/sites/default/files/documents/2020/01/phln-guidance-on-laboratory-testing-for-2019-ncov-phln-guidance-on-laboratory-testing-for-novel-coronavirus-2019-ncov.pdf>)

34 Yang, *et al.* « Evaluating the Accuracy of Different Respiratory Specimens in the Laboratory Diagnosis and Monitoring the Viral Shedding of 2019-NCov Infections ». *MedRxiv*, 17 février 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.11.20021493>.

35 Cet inconvénient a une portée moindre lorsque la stratégie de test conduit à ne tester que les personnes ayant des symptômes suffisamment graves pour être admises en établissement de soins.

36 Han, *et al.* « SARS-CoV-2 RNA More Readily Detected in Induced Sputum than in Throat Swabs of Convalescent COVID-19 Patients ». *The Lancet Infectious Diseases* (12 mars 2020). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30174-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30174-2).

- L'enjeu le plus immédiat consiste à « sortir du laboratoire de virologie » pour déployer plus largement les dispositifs de dépistage par PCR et accélérer la restitution des résultats.

Au niveau du prélèvement des échantillons biologiques, un déploiement des kits de prélèvement se met en place, et ce, à grande échelle, via les pharmacies ou par des envois à domicile, aux Etats-Unis, pour les personnes qui ont répondu à un questionnaire permettant d'établir une suspicion d'exposition au virus. Le kit comprend un écouvillon et un emballage de protection pour le renvoyer à l'un des laboratoires partenaires de l'opération, en mesure d'effectuer des PCR en grand nombre. Ce procédé ne réduit pas nécessairement la durée globale nécessaire pour obtenir les résultats, mais évite d'accroître la charge de travail des établissements de soins et réduit les risques de contamination tant pour le personnel soignant que pour la personne concernée ; il va de soi que la pertinence du résultat est fortement dépendante de la façon dont la personne réalise le prélèvement.

Au niveau de l'analyse des échantillons biologiques : depuis plusieurs années, on voit se développer une démarche appelée « diagnostic au lieu de soins »³⁷, fondée sur l'usage de machines plus petites, peu coûteuses, susceptibles d'être déployées dans un cabinet médical, voire sur le terrain, et ne nécessitant pas l'intervention d'un biologiste. Dans de nombreux domaines, sont déjà opérationnels des automates de diagnostic *in vitro* destinés à la détection de différents agents pathogènes contenus dans des échantillons cliniques. L'analyse est réalisée sans intervention manuelle dans des cassettes de réactifs spécifiques prêtes à l'emploi. Un logiciel dédié contrôle le fonctionnement de l'automate et collecte, analyse et conserve les données générées par celui-ci. Dans le cadre de l'épidémie actuelle, l'enjeu est donc de déterminer et valider rapidement les protocoles (matérialisés par les cassettes de réactifs et le code du logiciel de contrôle) adaptés à la détection du CoViD-19. Il sera alors possible de démultiplier la capacité de dépistage en population générale en atténuant le risque d'infection nosocomiale, tant pour la population testée que pour les personnels soignants, mais elle n'est pas exempte de faiblesses, notamment au regard de l'assurance de la qualité des résultats obtenus³⁸.

Dans un registre plus technique, on peut noter que des efforts ont également été entrepris pour accélérer le cycle thermique des PCR classiques : en février, la Hong Kong University of Science and Technology a mis au point une PCR par test microfluidique intégré utilisant un module de micro-chauffage à très faible inertie thermique, qui permet de rendre beaucoup plus rapides les transitions de température pendant chaque cycle thermique : avec ce procédé, la PCR est réalisée en 40 minutes³⁹.

- En tout état de cause, le développement d'un dépistage à grande échelle doit surmonter des obstacles ou des freins logistiques : sont particulièrement cruciaux la disponibilité des écouvillons destinés à prélever les échantillons chez les patients, la disponibilité des réactifs nécessaires à l'extraction de l'ARN viral à partir des échantillons biologiques et la disponibilité des réactifs nécessaires à l'extraction d'ARN et à la PCR. Techniquement, la

37 Drancourt, *et al.* « The Point-of-Care Laboratory in Clinical Microbiology ». *Clinical Microbiology Reviews* 29, n° 3 (1 juillet 2016): 429-47. <https://doi.org/10.1128/CMR.00090-15>.

38 Lisa-Jean Clifford, « The pros and cons of point-of-care testing vs laboratory testing », *Medical Laboratory Observer*, 23 octobre 2018 (<https://www.mlo-online.com/continuing-education/article/13017084/the-pros-and-cons-of-pointofcare-testing-vs-laboratory-testing>)

39 « HKUST Research Team Invents World's Fastest Coronavirus Detection Device Offering Diagnostic Results in 40 Minutes », 5 février 2020 (<https://www.ust.hk/news/research-and-innovation/hkust-research-team-invents-worlds-fastest-coronavirus-detection>)

quasi-totalité des laboratoires français de recherche en biologie sont en mesure de faire de telles PCR, mais ces opérations sont très chronophages et les laboratoires ne seront en mesure de faire beaucoup plus qu'une centaine de tests, selon leurs réserves de réactifs. L'utilisation mondiale de ces réactifs crée une tension importante sur ce secteur⁴⁰.

Les autres méthodes de dépistage utilisables pendant l'épidémie, à des fins diagnostiques

- L'examen des poumons par scanographie (ou CT-scan) est une méthode *a priori* insuffisamment discriminante mais pertinente lorsque l'épidémie est largement installée, d'autant qu'elle est bien plus rapide qu'un prélèvement suivi d'une RT-PCR, et ne nécessite pas de réactifs susceptibles de manquer⁴¹.

Bien que les atteintes causées par le SARS-CoV-2 aux tissus pulmonaires ne soient pas spécifiques, une scanographie des poumons pourrait aider au diagnostic précoce de l'infection⁴². Certaines études, bien que conduites avec de petits échantillons, suggèrent que les tomodensitogrammes (ou CT-scan) peuvent montrer des indications de COVID-19 avant l'apparition des symptômes ou un test RT-PCR positif⁴³. Une autre étude récente conclut qu'un modèle d'apprentissage profond serait en mesure d'extraire, à partir de scans pulmonaires, les informations permettant de détecter une infection pulmonaire virale et de la différencier d'autres pneumonies ou maladies pulmonaires ; cependant, ce modèle ne semble pas permettre la différenciation entre une infection virale par SARS-CoV-2 et une autre infection virale⁴⁴.

L'examen des poumons par scanographie ne semble donc pouvoir intervenir qu'en complément d'une autre méthode diagnostique, du moins tant que l'épidémie ne s'est pas répandue dans une partie significative de la population. Dans cette dernière situation, on peut au contraire raisonnablement présumer d'une infection d'origine épidémique lorsque le CT-scan révèle des lésions pulmonaires. Le CT-scan, technique rapide, fiable, et qui expose moins le personnel médical, devient alors très pertinent pour réaliser un dépistage.

- Le séquençage direct du génome viral est une technique dont le champ d'intervention est limité dans le cas présent

Un séquençage complet de tout fragment de génome présent dans l'échantillon permet de détecter la présence du virus par correspondance avec les séquences déposées dans les banques de données. Un tel séquençage permet de détecter les cas d'infection mais il permet

40 Robert F. Service, « The standard coronavirus test, if available, works well — but can new diagnostics help in this pandemic ? », *Science*, 22 mars 2020 (<https://www.sciencemag.org/news/2020/03/standard-coronavirus-test-if-available-works-well-can-new-diagnostics-help-pandemic>) ; “The American Society of Microbiology Expresses Concern about Coronavirus Test Reagent Shortages” <https://asm.org/Articles/Policy/2020/March/ASM-Expresses-Concern-about-Test-Reagent-Shortages> ; “RNA Extraction Kits for COVID-19 Tests Are in Short Supply in US” <https://www.the-scientist.com/news-opinion/rna-extraction-kits-for-covid-19-tests-are-in-short-supply-in-us-67250>.

41 Ye, *et al.* « Chest CT Manifestations of New Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Pictorial Review ». *European Radiology*, 19 mars 2020. <https://doi.org/10.1007/s00330-020-06801-0>.

42 Bernheim, *et al.* « Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection ». *Radiology*, 20 février 2020, 200463. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200463>.

43 Ai, *et al.* « Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases ». *Radiology*, 26 février 2020, 200642. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200642> ; Shi, *et al.* « Radiological Findings from 81 Patients with COVID-19 Pneumonia in Wuhan, China: A Descriptive Study ». *The Lancet Infectious Diseases*, 24 février 2020. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30086-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30086-4) ; Xie, *et al.* « Chest CT for Typical 2019-NCov Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing ». *Radiology*, 12 février 2020, 200343. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200343>.

44 Li, *et al.* « Artificial Intelligence Distinguishes COVID-19 from Community Acquired Pneumonia on Chest CT ». *Radiology*, 19 mars 2020, 200905. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200905>.

avant tout de suivre l'évolution du virus et ses mutations éventuelles, étant de ce fait surtout utile dans les premiers développements de l'épidémie. Une société comme Oxford Nanopore décline au SARS-CoV-2 son matériel (parfois portable, comme l'appareil MinION, utilisé dans le cadre des crises sanitaires Ebola ou Zika), qui permet la détection du virus par séquençage à haut débit de son génome en 7 heures⁴⁵. De premières demandes d'autorisation ont cependant été déposée auprès de la *Food and Drug Administration* à la mi-mars 2020.

- L'identification par la technique CRISPR d'édition du génome, une technique au stade de la preuve de concept

Deux sociétés américaines (Mammoth Biosciences et Sherlock Biosciences) travaillent chacune à élaborer un test faisant appel à la technique d'édition du génome CRISPR (dite « des ciseaux moléculaires »). Le procédé commence, fort classiquement, par l'extraction de l'ARN viral et par une amplification de matériel génétique. Sont ensuite ajoutés dans le milieu réactionnel :

- une protéine dite « Cas », dont le rôle est de couper l'ARN viral ;
- un ARN dit « guide », qui va fixer la protéine Cas sur une partie déterminée de l'ARN viral (en l'espèce, caractéristique du SRAS-CoV-2) ;
- des molécules « révélateurs » dont l'altération entraîne l'émission d'une fluorescence.

Si l'ARN guide trouve effectivement sa cible dans le milieu réactionnel, la protéine s'active, se fixe sur l'ARN viral et le coupe, ainsi que les autres brins d'ARN viral à proximité, et altère les molécules « révélateurs » ; une fluorescence apparaît dans le tube à essai, signifiant la détection du virus.

Les dispositifs sont encore au stade de la preuve de concept et les applications concrètes ne sont pas attendues avant plusieurs mois. On peut s'interroger sur l'intérêt d'une technique qui repose de toute façon sur une amplification de matériel génétique.

- L'amplification isotherme de matériel génétique, une piste intéressante mais pas encore validée.

La PCR est une technique d'amplification de matériel génétique reposant sur plusieurs dizaines de cycles thermiques, ce qui nécessite une durée certaine. Il existe à côté de la PCR des méthodes d'amplification isothermes, notamment la technique LAMP (Loop-Mediated Amplification)⁴⁶. Cette méthode a plusieurs avantages : elle procure des niveaux d'amplification qui approchent ceux de la PCR classique ; elle bénéficie d'un très haut niveau de spécificité, lié à l'utilisation de 4 ou 6 amorces ; elle tolère la présence dans le milieu réactionnel de substances inhibitrices de PCR ; elle est en générale très rapide (moins d'une heure) et consomme peu d'énergie (la température de service est d'environ 60-65°C).

Cependant, il ne semble pas que l'on dispose d'ores et déjà de solutions scientifiquement validées et a fortiori autorisées par les autorités sanitaires pour le dépistage d'infections

45 <https://nanoporetech.com/about-us/news/novel-coronavirus-covid-19-information-and-updates>

46 Becherer, *et al.* « Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) – Review and Classification of Methods for Sequence-Specific Detection ». *Analytical Methods* 12, n° 6 (13 février 2020): 717-46. <https://doi.org/10.1039/C9AY02246E>.

virales humaines. Dans le cadre du projet VIVALDI⁴⁷ bénéficiant de financements de l'Union européenne, un consortium piloté par l'Université technologique du Danemark a développé une plateforme de test et cherche actuellement à obtenir une validation pour la détection de trois pathogènes zoonotiques : la grippe aviaire, la salmonelle et les bactéries du genre *Campylobacter*.

Le dépistage des anticorps par dosage immunologique, un dépistage à vocation épidémiologique

Le test de la présence d'anticorps fournit des informations complétant celles obtenues à partir de la détection directe d'une infection active (par exemple par PCR), il renseigne sur le niveau d'immunisation de l'individu. C'est le seul moyen de déterminer de manière fiable la fraction de la population infectée par le virus, bien qu'avec un retard d'une à deux semaines, voire plus.

Les dosages immunologiques sont faciles à réaliser et fournissent des résultats rapidement (en 20 à 60 minutes). A ce jour, la réponse immunologique chez le patient infecté reste largement inconnue ; les résultats obtenus lors des tests de validation ne peuvent donc pas nécessairement être reproduits en milieu clinique⁴⁸. Une étude chinoise effectuée sur un échantillon de 173 patients montre que le dépistage sérologique peut compléter utilement le dépistage par amplification d'ARN : en effet, chez les patients suivis, le taux de détection de l'ARN évolue en sens inverse du taux de détection des anticorps au fil des jours⁴⁹.

Un système de dépistage des anticorps (sérologie) devra être mis en œuvre à grande échelle dès que possible après la fin du confinement. Une cohorte de personnes présentant une infection documentée devrait être surveillée afin de déterminer le délai de séroconversion et de préciser les caractéristiques de la réponse immunologique humaine au virus. Les personnes suspectées d'être exposées, en particulier les professionnels de santé, doivent être testées car des titres élevés d'anticorps signifient probablement qu'elles ne risquent plus de contracter ou de propager la maladie et peuvent de ce fait être affectées ou réaffectées dans des zones à haut risque⁵⁰. Il est également important d'évaluer la part de la population générale exposée au virus, pour mieux prédire l'impact d'une deuxième vague épidémique. Ces tests pourraient être réalisés sur les dons de sang prélevés par l'EFS.

47 Nguyen, *et al.* « 2019 Novel Coronavirus Disease (COVID-19): Paving the Road for Rapid Detection and Point-of-Care Diagnostics ». *Micromachines* 11, n° 3 (mars 2020): 306. <https://doi.org/10.3390/mi11030306>.

48 Sheridan, Cormac. « Fast, Portable Tests Come Online to Curb Coronavirus Pandemic ». *Nature Biotechnology*, 23 mars 2020. <https://doi.org/10.1038/d41587-020-00010-2>.

49 Zhao, *et al.* « Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients of Novel Coronavirus Disease 2019 ». *MedRxiv*, 3 mars 2020, 2020.03.02.20030189. <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.20030189>.

50 Salathé, *et al.* « COVID-19 Epidemic in Switzerland: On the Importance of Testing, Contact Tracing and Isolation ». *Swiss Medical Weekly* 150, n° 1112 (19 mars 2020). <https://doi.org/10.4414/smw.2020.20225>.