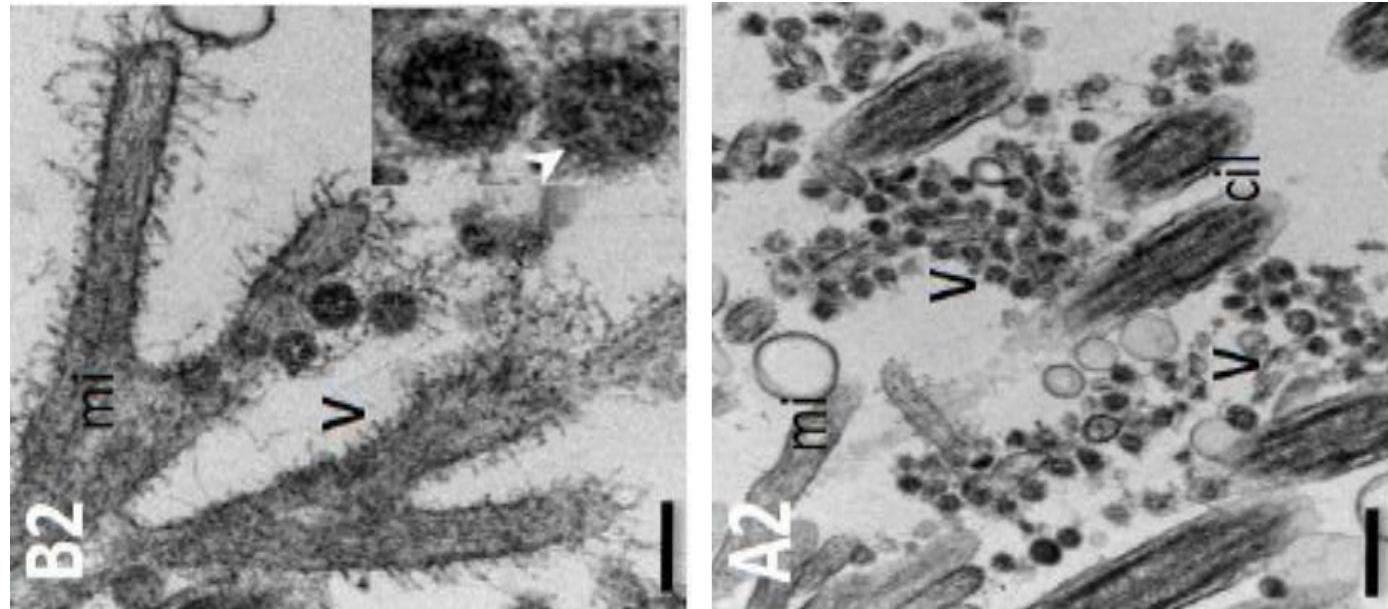


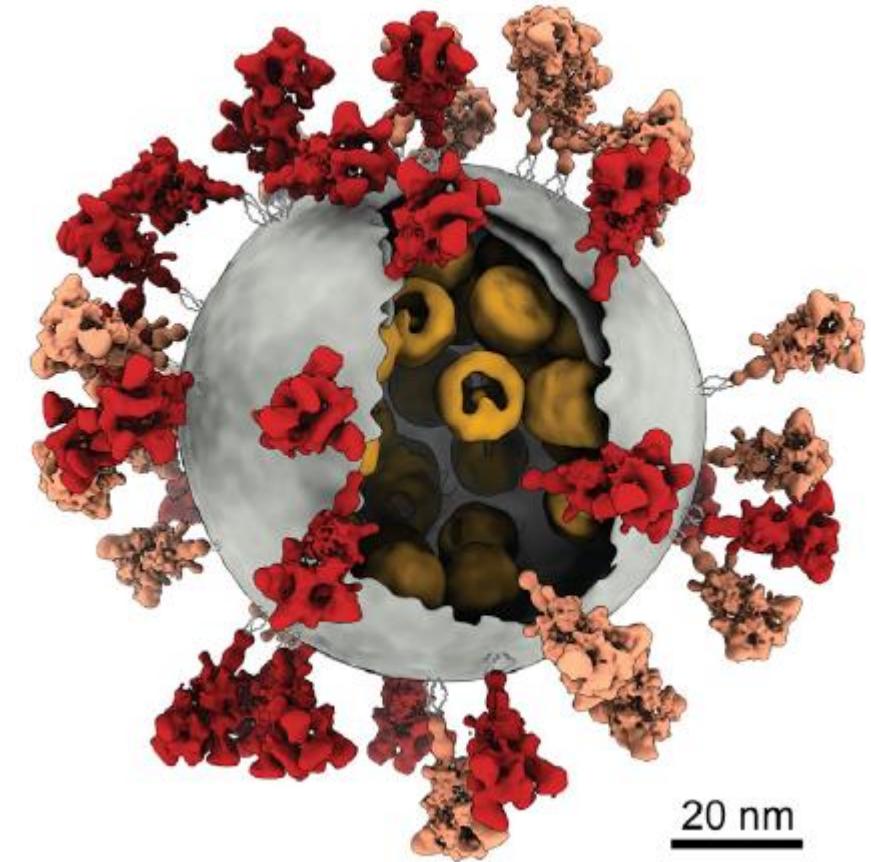
Techniques Diagnostiques

Bruno LINA

Le virus



Pizzorno MA et al, 2020



Yao H et al, 2020

Comment faire un suivi diagnostic

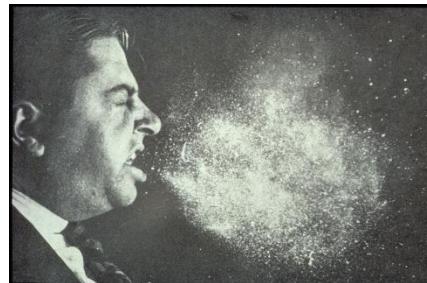
1. Ou se trouve le virus?

Voies aériennes

Sang

Selles

Autres...



2. Quelle période d'incubation, de contagiosité, d'excrétion

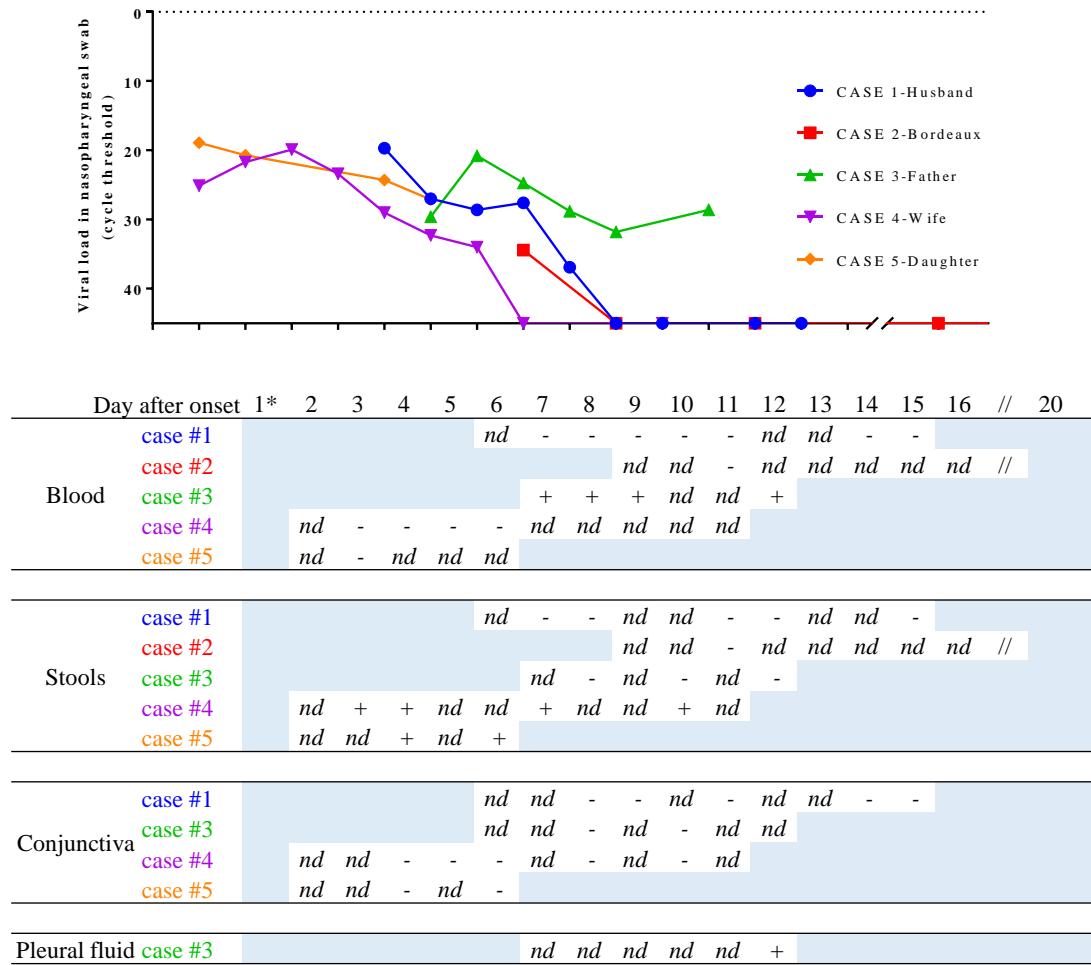
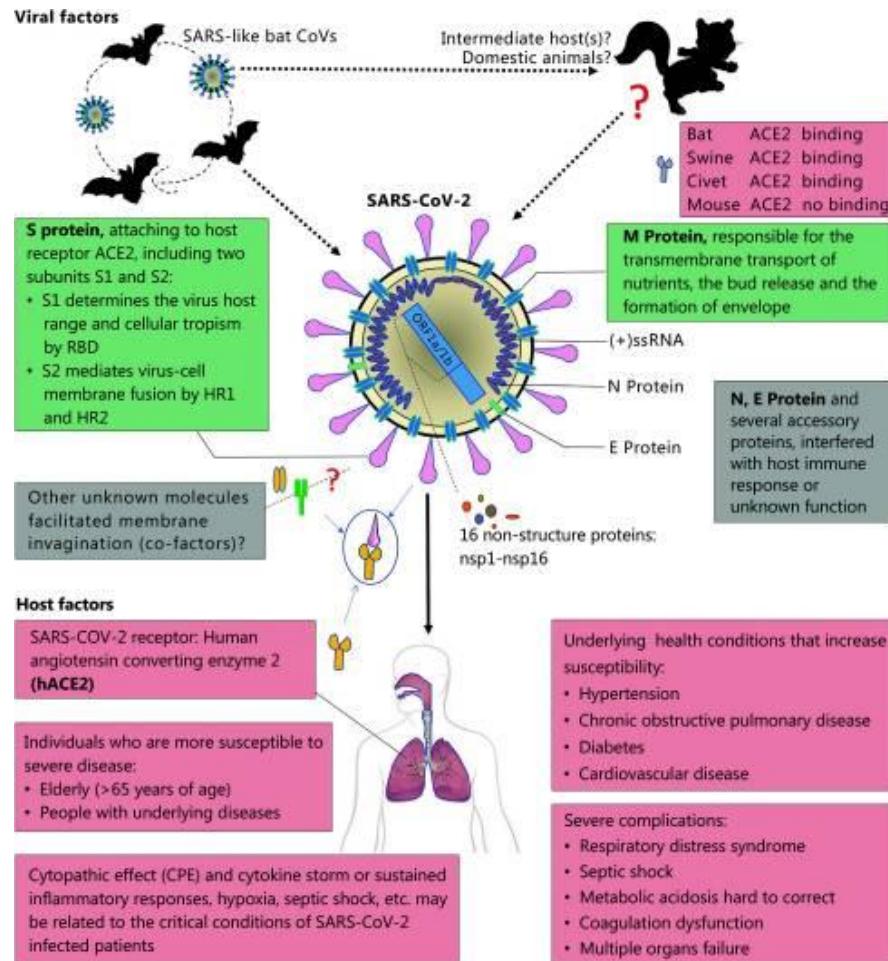
3. Y a –t'il des situations particulières

Immunodéprimés

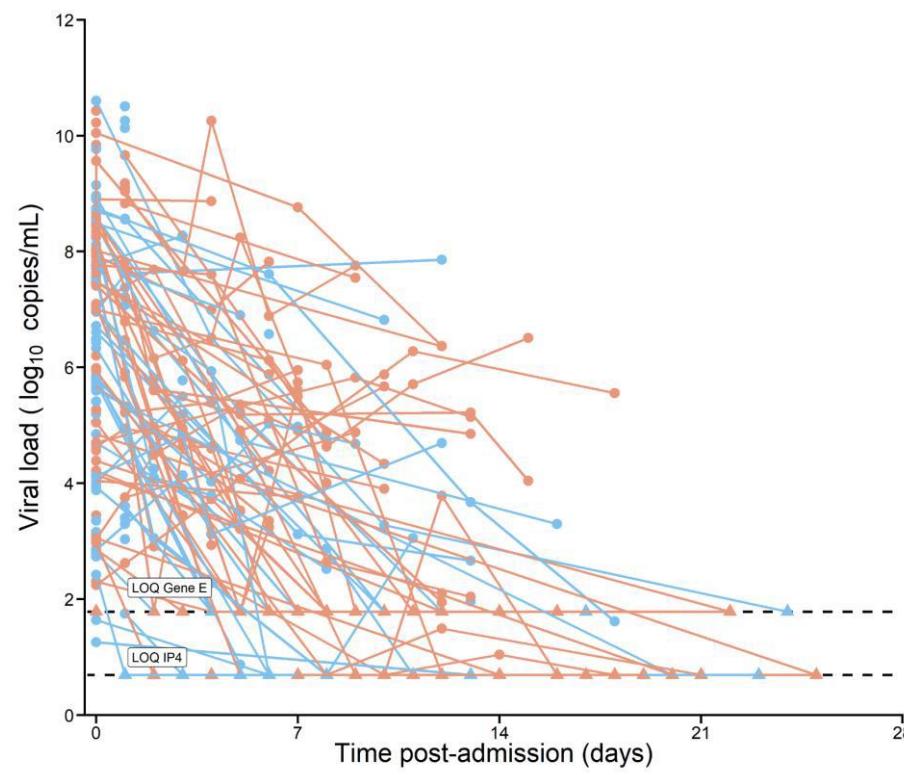
Enfants

Autres...

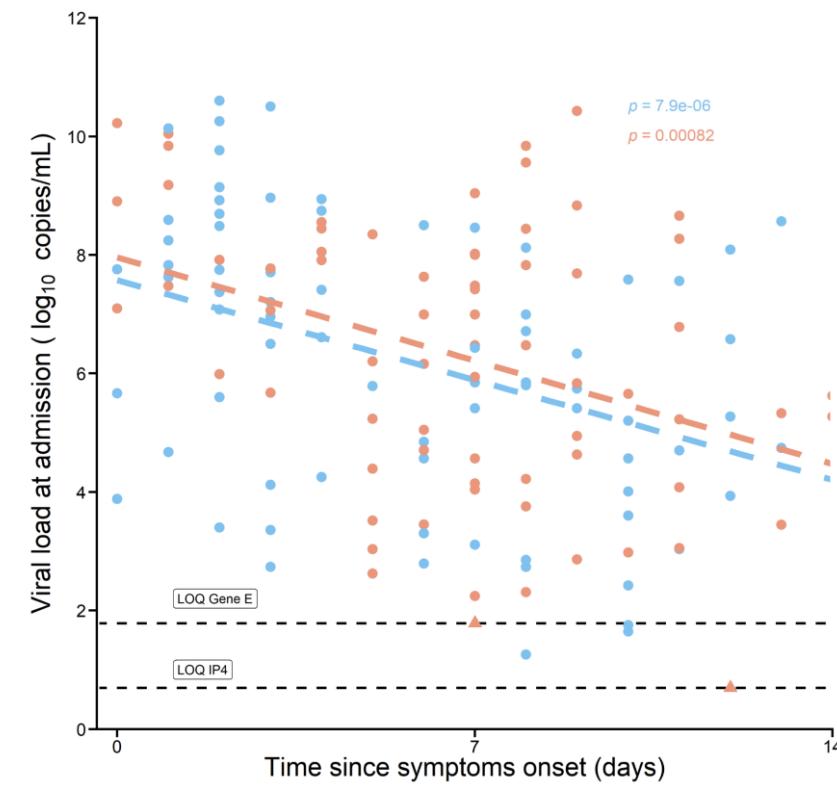
Les cibles et les données préliminaires du SARS-CoV-2



Detection d'ARN viral dans les prélèvements respiratoires (load)

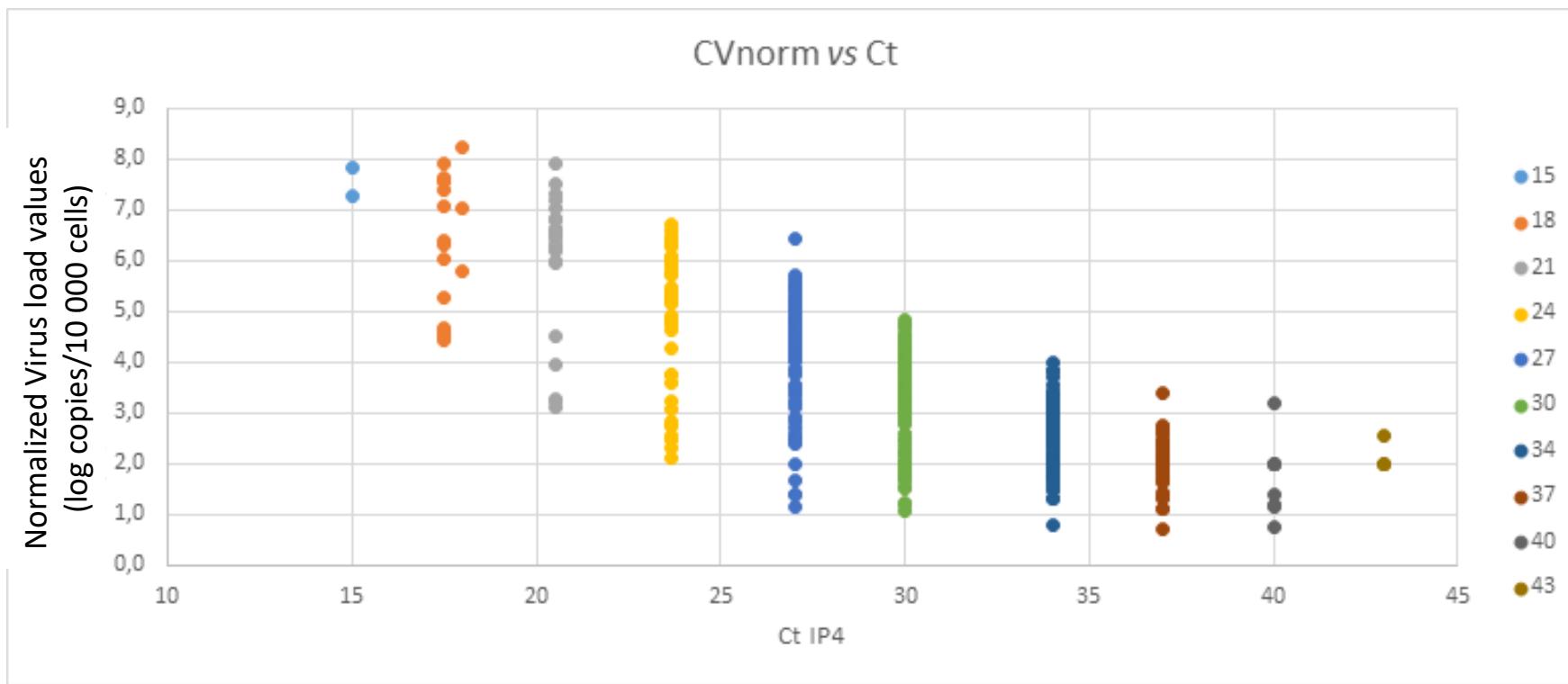


Viral load at admission : 5.9 \log_{10} copies/mL (4.1-7.9)

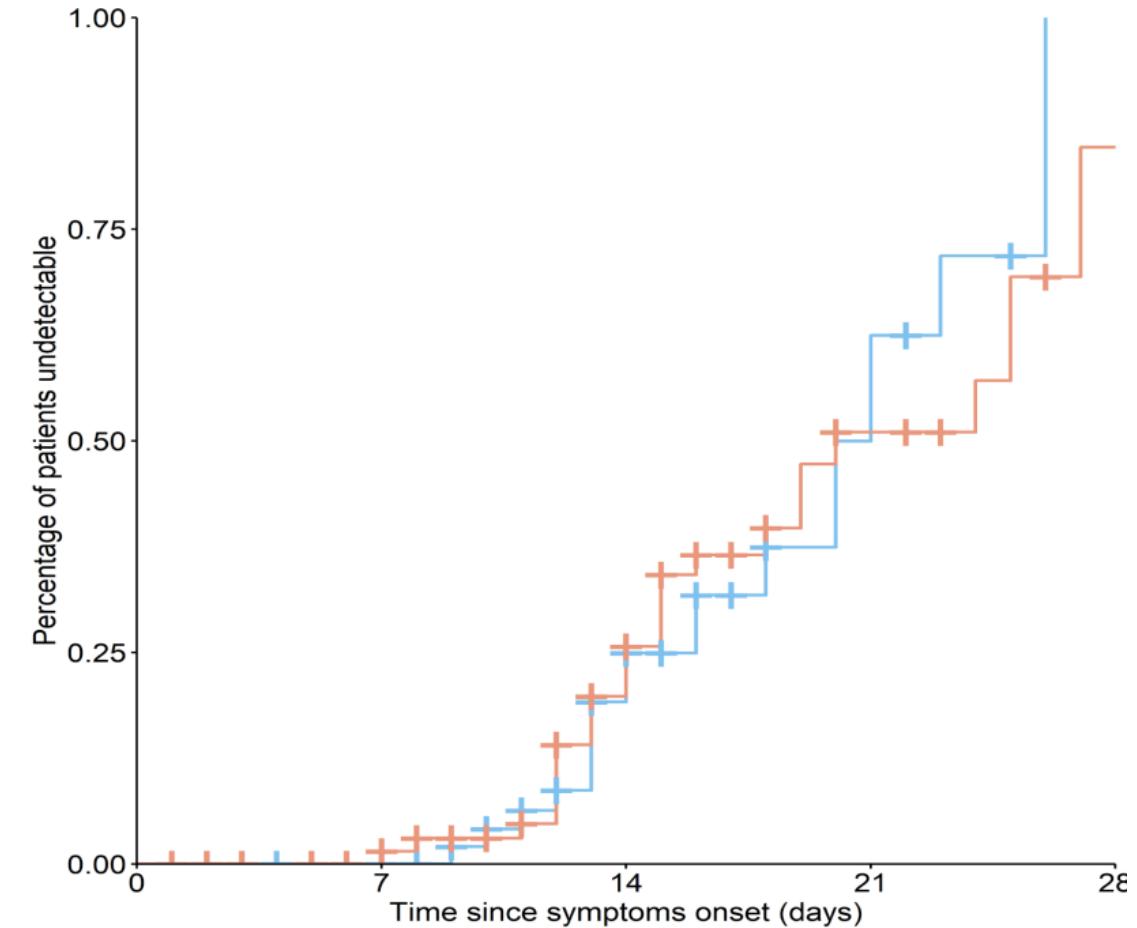
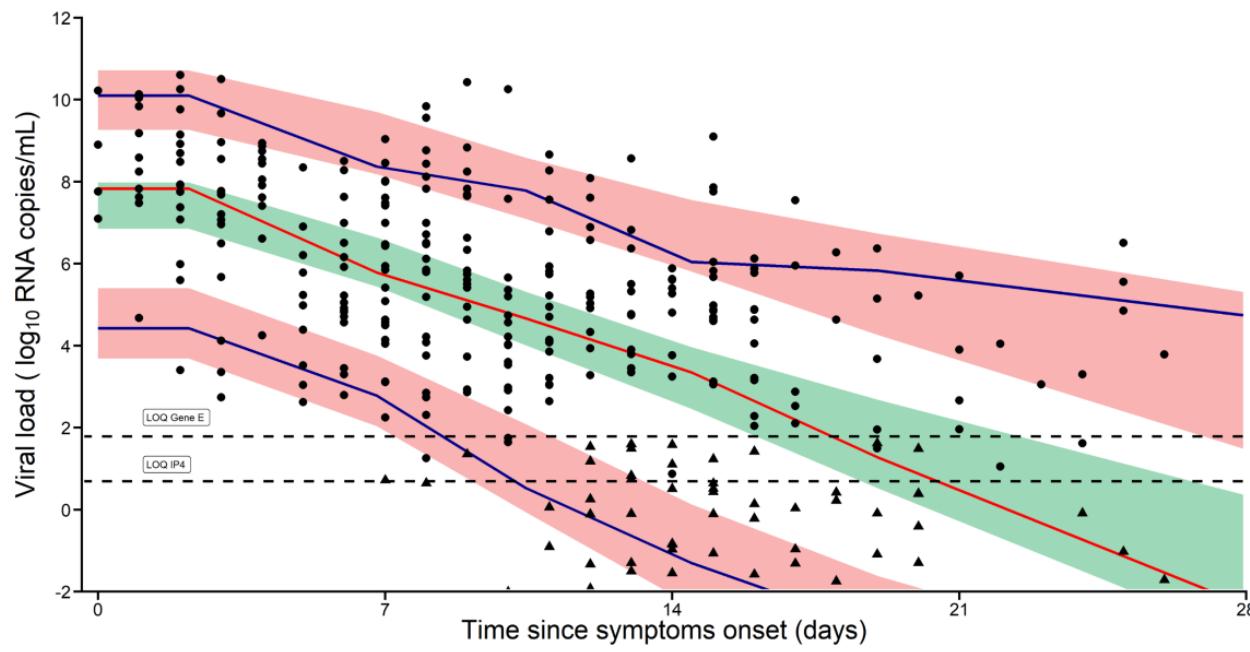


Viral load at admission is larger in patients arriving early after symptom onset

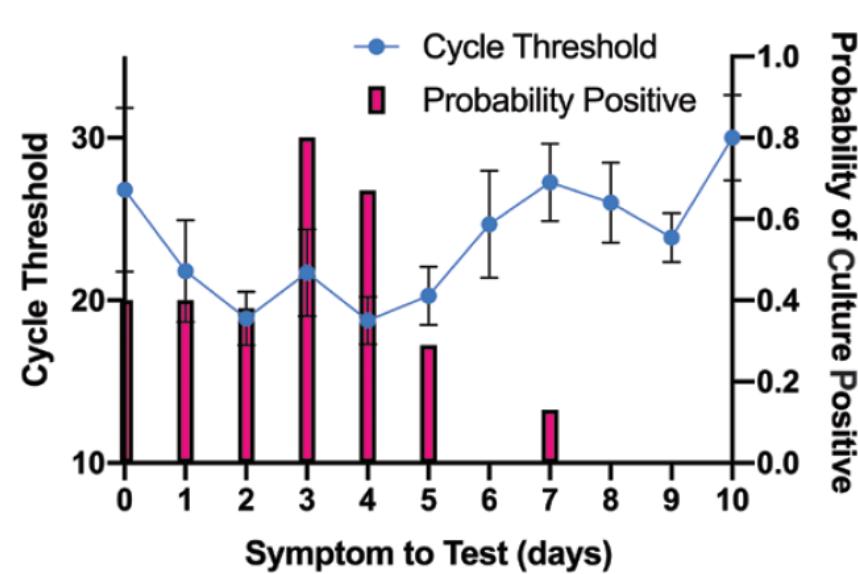
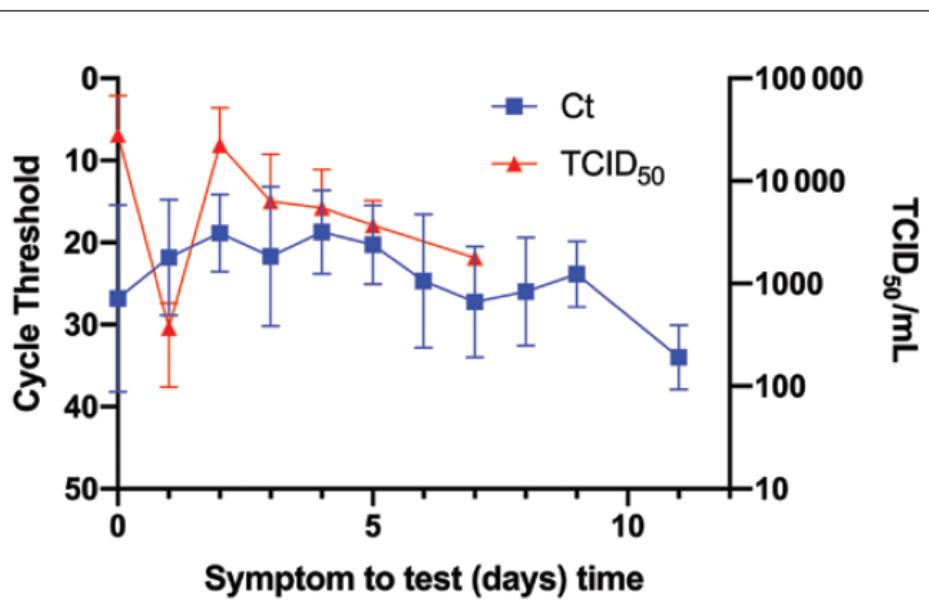
Corrélation charge virale – Valeure de CT?



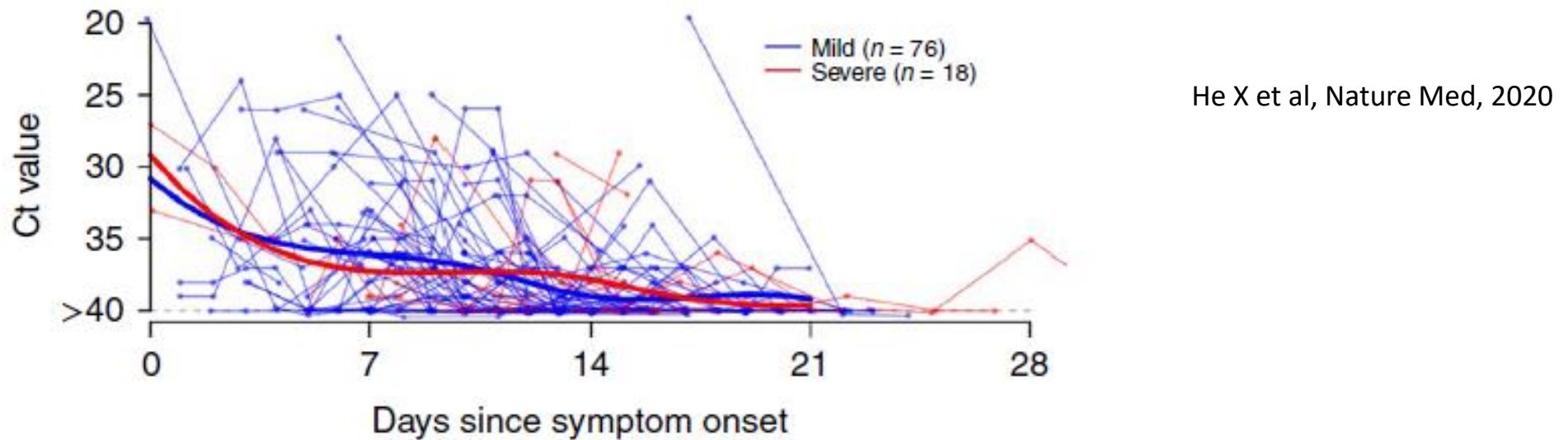
Evolution des CT vers la négativation



Detection of a « cultivable » virus consistent with the 7-day limit of infectiousness



Evolution of Ct values in respiratory specimens



- This info support the reduction of risk beyond day 7

Données SFM interprétation des CT

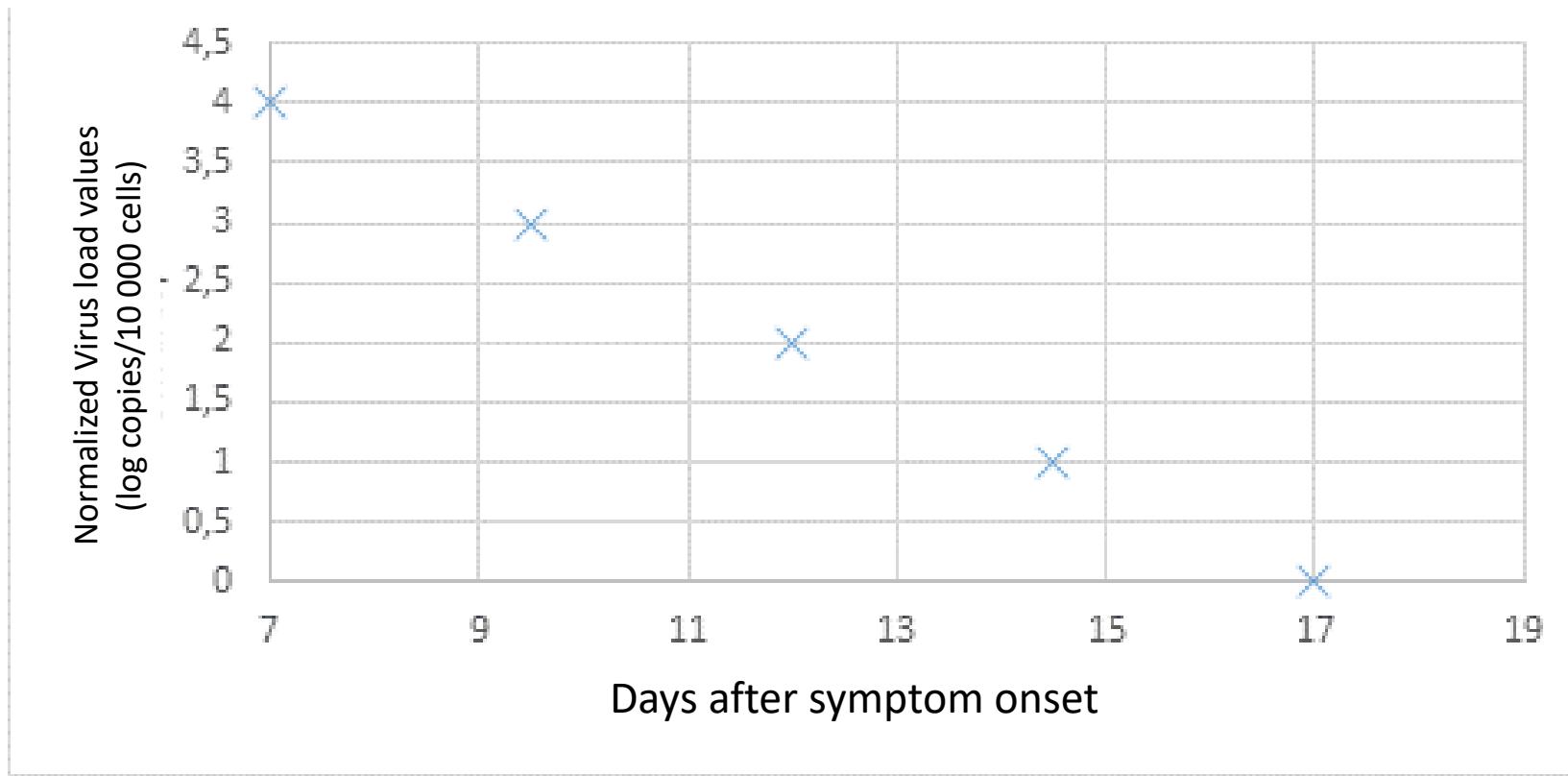
Selon les techniques, 2 ou 3 gènes viraux sont analysés*.

Il est recommandé de suivre les règles d'interprétation
de la technique utilisée.

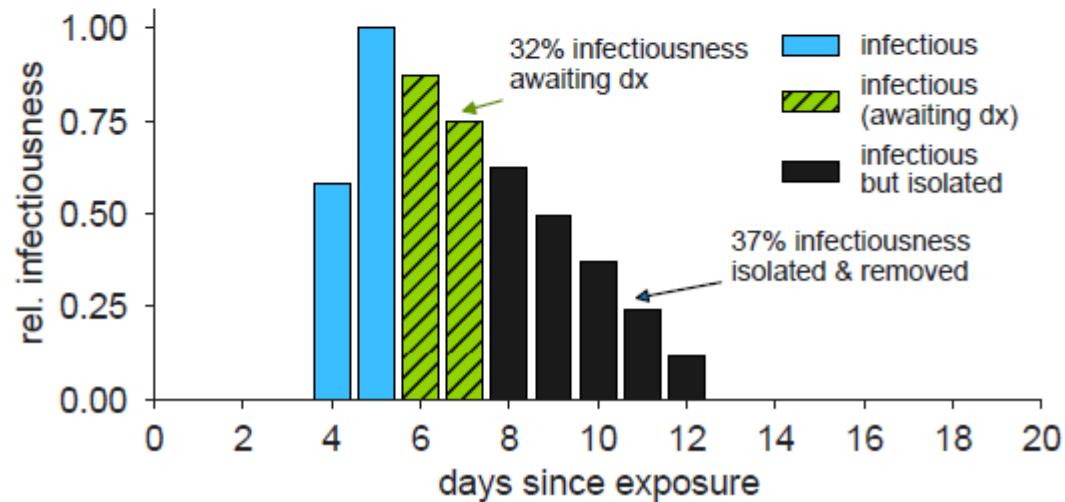
En plus de ces règles, et en accord avec les évaluations de concordance
entre la technique utilisée et la technique CNR IP4, les interprétations suivantes
peuvent être appliquées (les valeurs de Ct indiquées ici faisant référence
à la technique CNR IP4) :

- si 2 cibles sur 3 ou toutes cibles détectées avec Ct de la cible
la plus sensible $Ct \leq 33$, rendre « **Positif** »
- si 2 cibles sur 3 ou toutes cibles détectées avec Ct de la cible
la plus sensible > 33 , rendre « **Positif faible** »

« Normalisation » de l'évolution des charges SARS-CoV-2 dans les Prélèvements respiratoires hauts (non severe)



Transmission ?

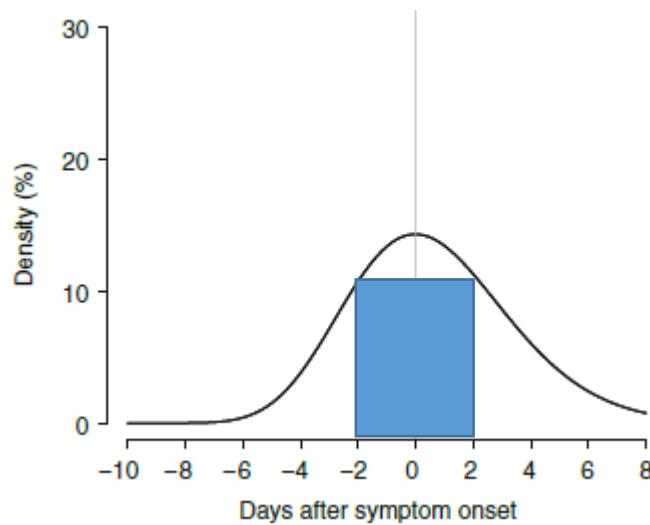


medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.22.20136309>.

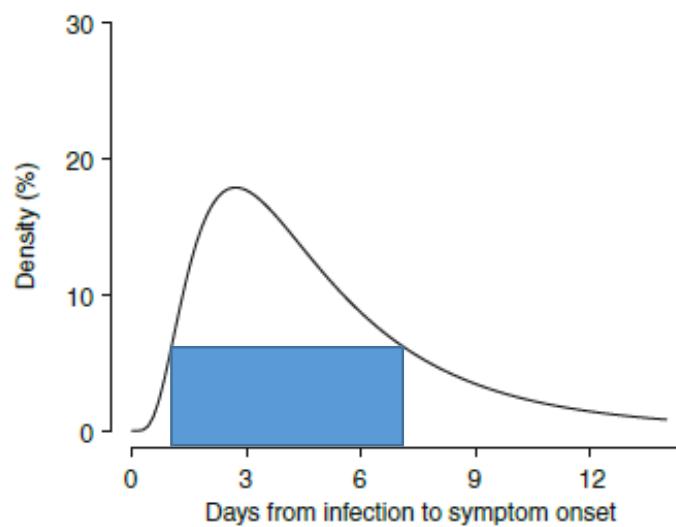
- Early isolation is absolutely required to be effective

Transmission

- Data from upper respiratory tract



infectiousness profile



incubation period



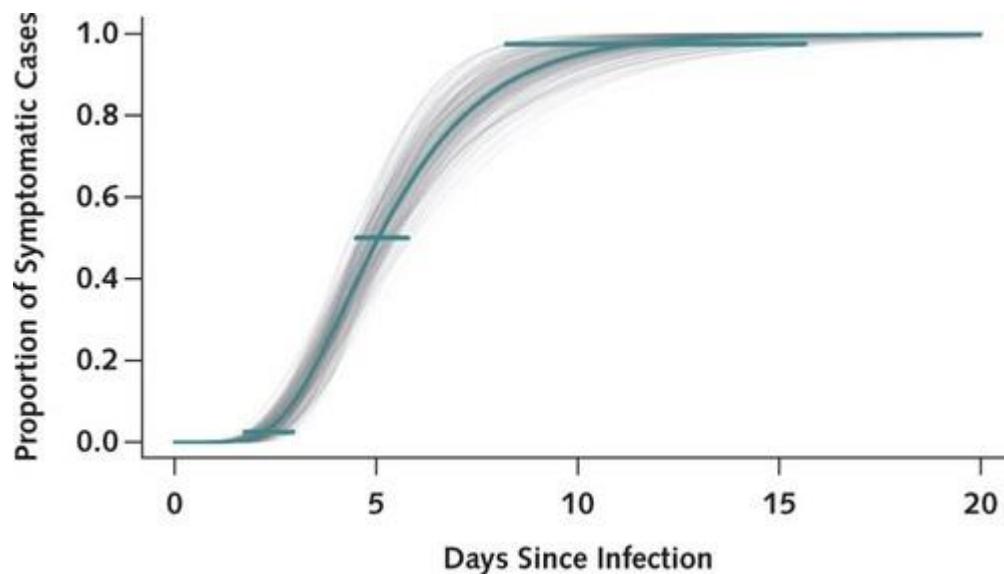
Detection of virus 2-3 days before symptom onset (pre-symptomatic phase)

Transmission risk is high around symptom onset, and start 2-3 days before

Swabbing at day 7 of incubation provide risk assessment until Day 9-10 after an infectious contact

Risk of transmission (incl screening pre-sympto)

- The estimated median incubation period is 5.1 days (CI, 4.5 to 5.8 days).
- Symptom onset will occur within 11.5 days (CI, 8.2 to 15.6 days) for 97.5% of infected persons, and for approx. 90% of individuals screened at 7 days after symptom onset (incl. 2-3 days of pre-symptomatic shedding phase)



Lauer SA et al, Annals Intern Med 2020

Positionnement des tests

- Le plus sensible RT-PCR, mais...
- Le test moléculaire le plus rapide LAMP, mais...
- Le test le plus simple Test AG, mais...
- Le plus informatif le NGS, mais...
- Le plus précis pour les charges virales la dPCR, mais...
- Quand s'en servir et pourquoi s'en servir?

Les tests antigéniques

Nous avons pu analyser 462 prélèvements dans les 2 techniques.

	RT-PCR +	RT-PCR -
Test Ag +	53	5
Test Ag -	46	358
Total	99	363

Sensibilité du test Ag par rapport à la RT-PCR : 53,5% ($=53*100/99$)

Spécificité du test Ag par rapport à la RT-PCR : 98.6% ($= 358*100/363$)

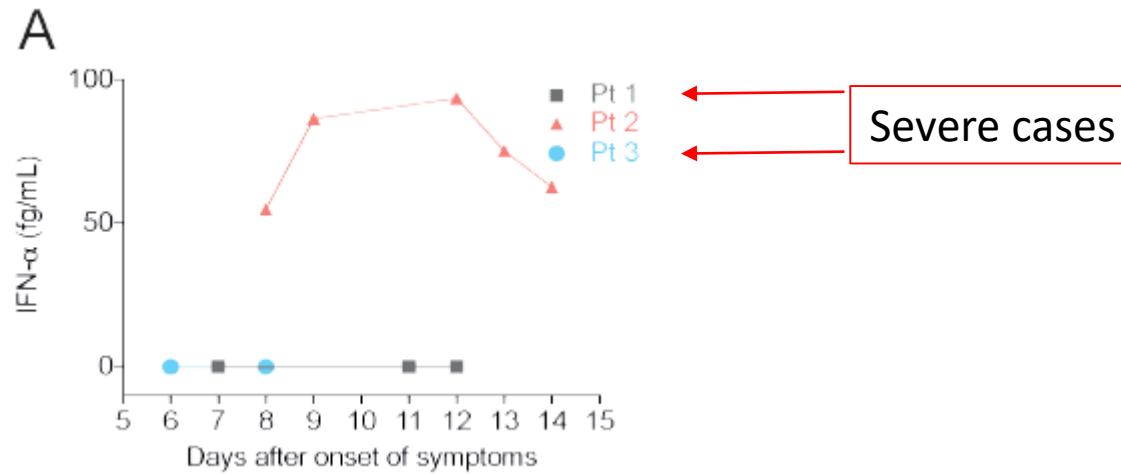
Dans cette population, la prévalence était de 21.4% ($=99/462$)

Valeur prédictive positive du test Ag : 91.4%

Valeur prédictive négative du test Ag : 88.6%

La sérologie

Réponse immunitaire



Trouillet-Assant S et al, JACI 2020

Zhou F et al , Lancet 2020

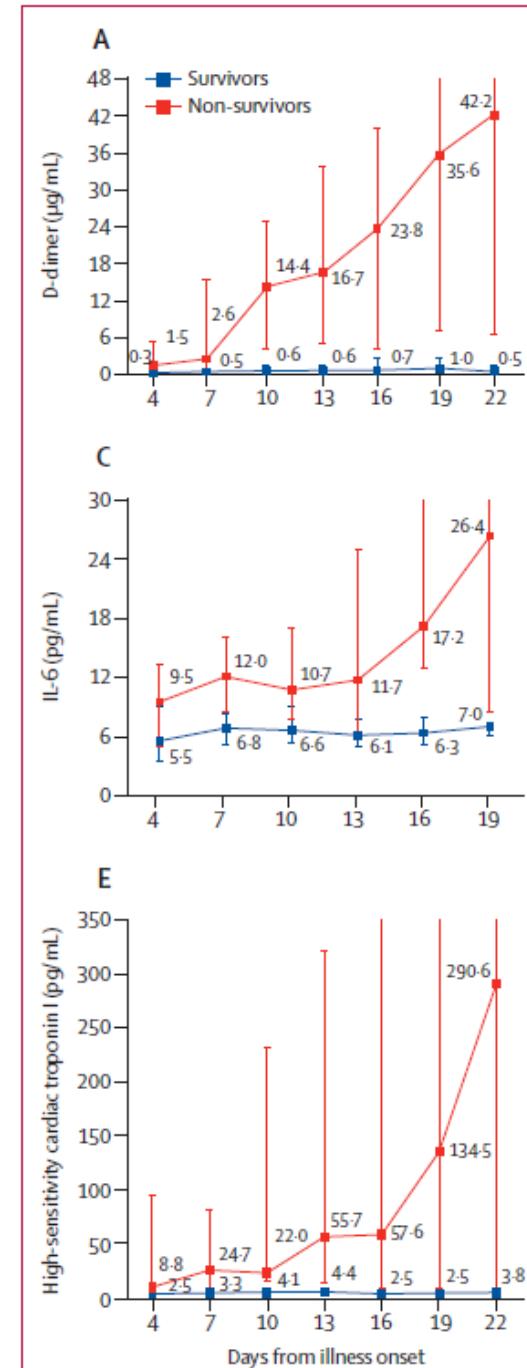
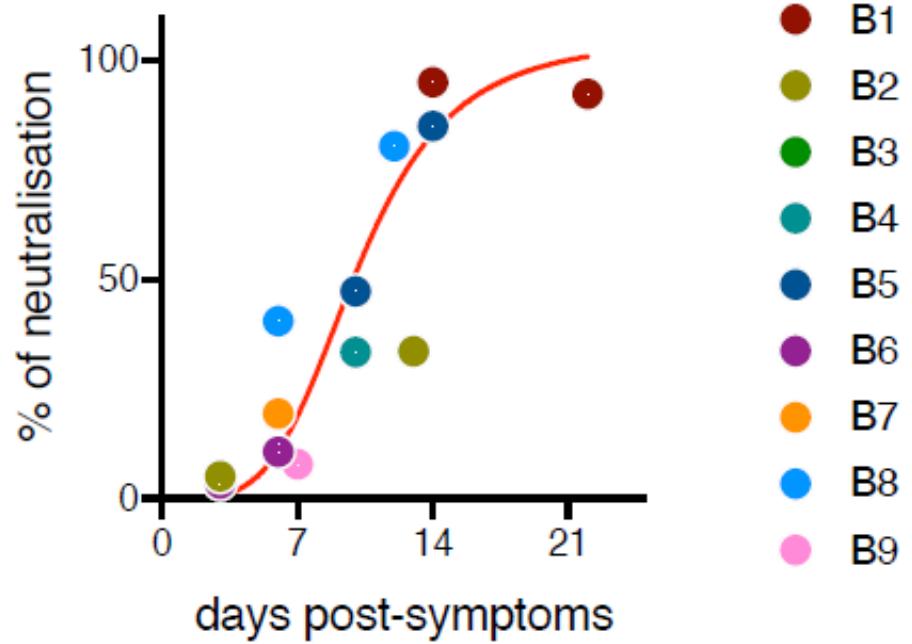
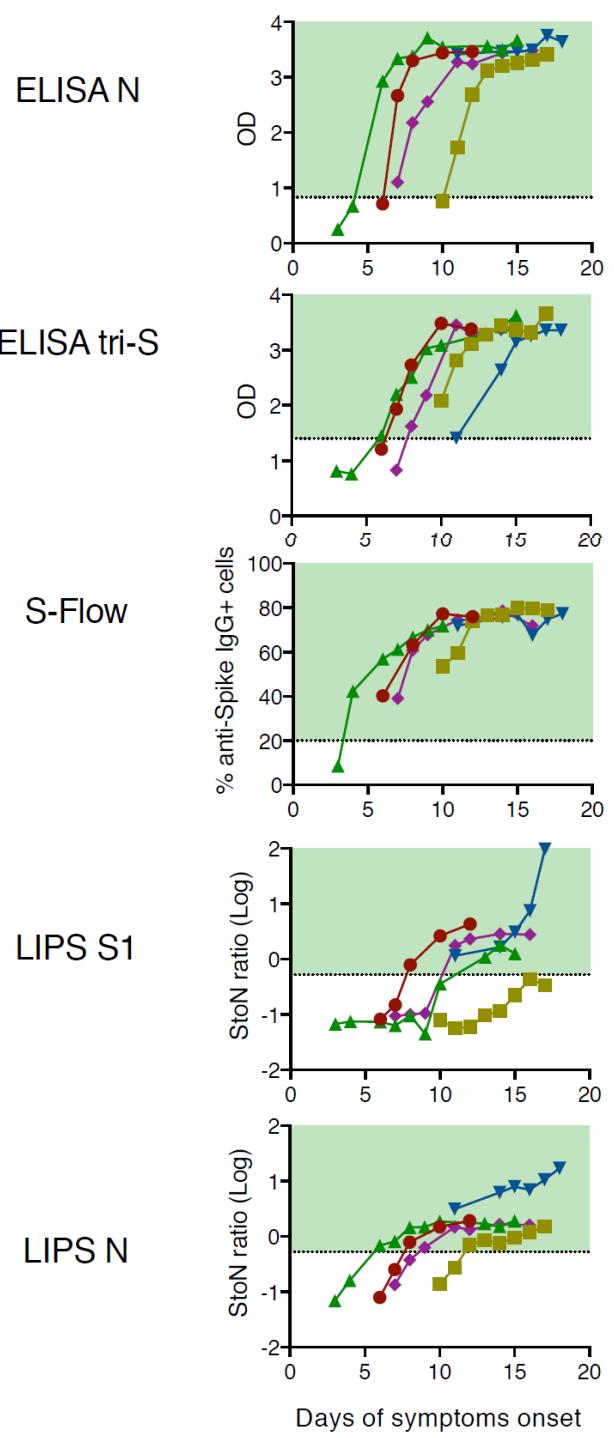
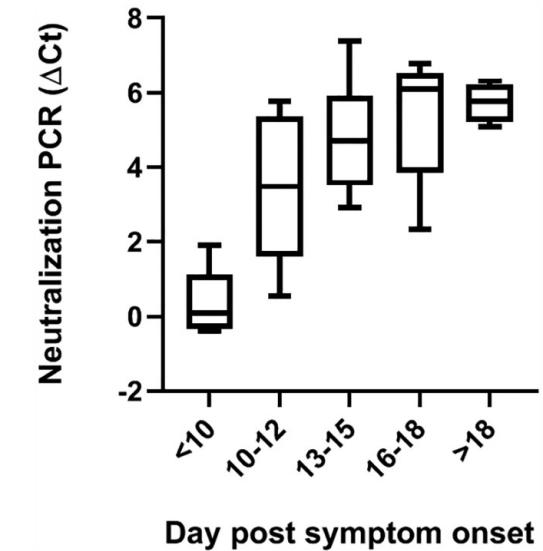
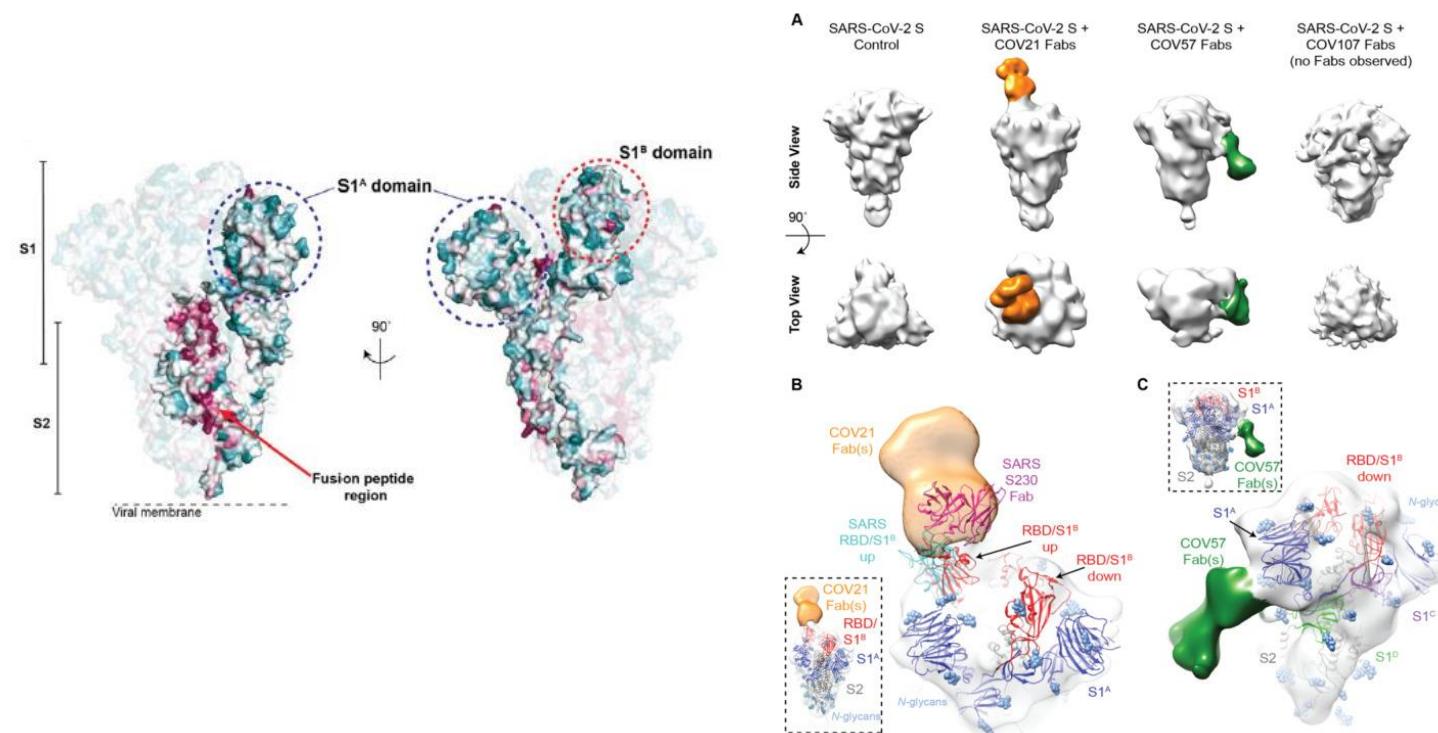


Figure 2: Temporal changes in laboratory markers from illness onset in patients hospitalised with COVID-19

Serology first set of data



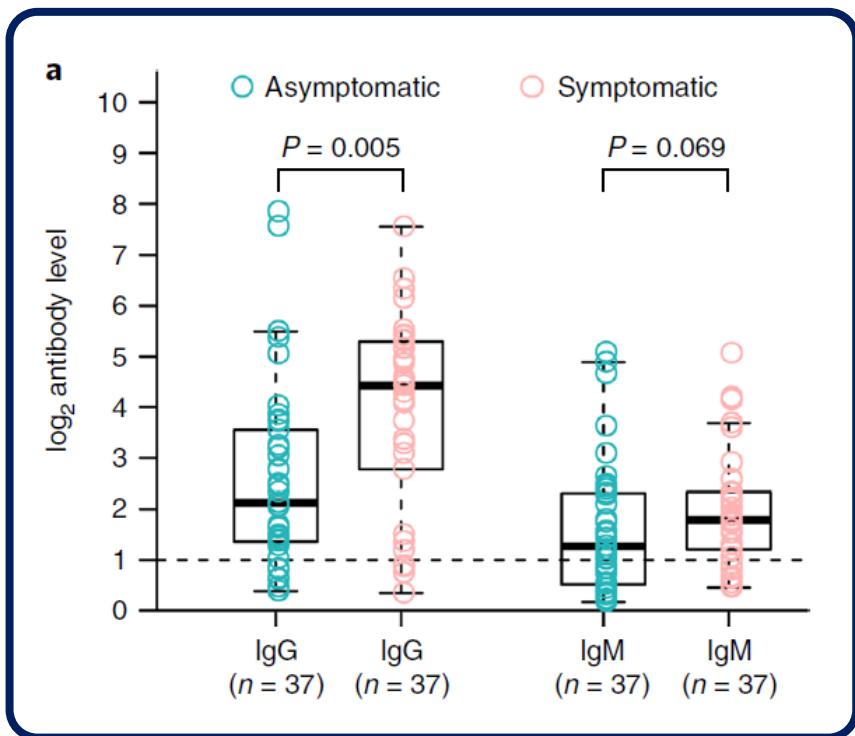
Immune response to infection – neutralizing antibodies = antiRBD



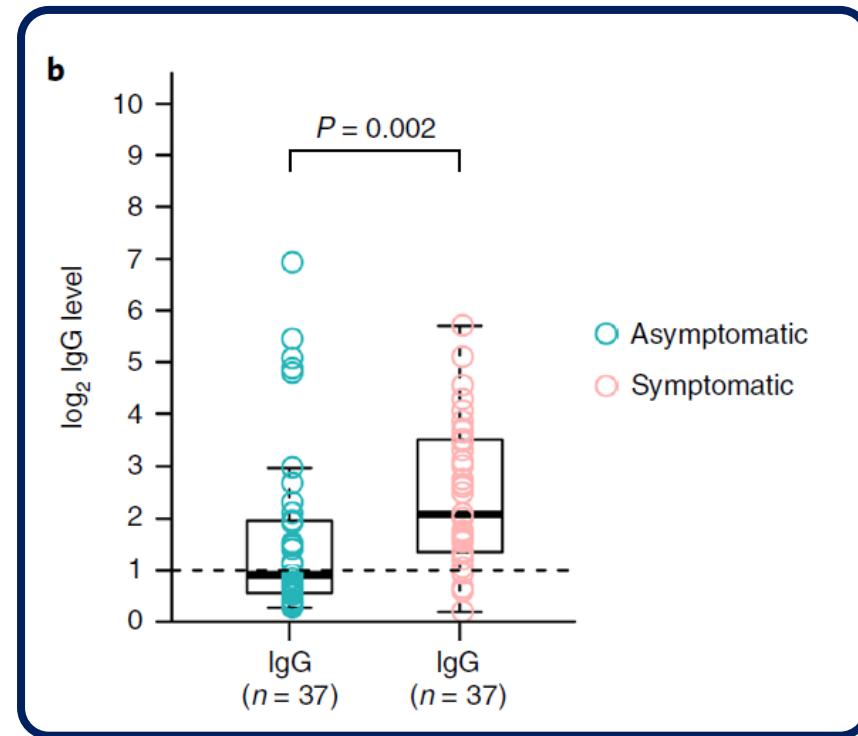
Barnes CO et al, BioRxiv 2020 May 29;2020.05.28.121533

Danh K, MedRxiv, 2020 Jun 2;2020.05.28.20105692

Evolution of IgG levels in the symptomatic and asymptomatic cases in the acute phase

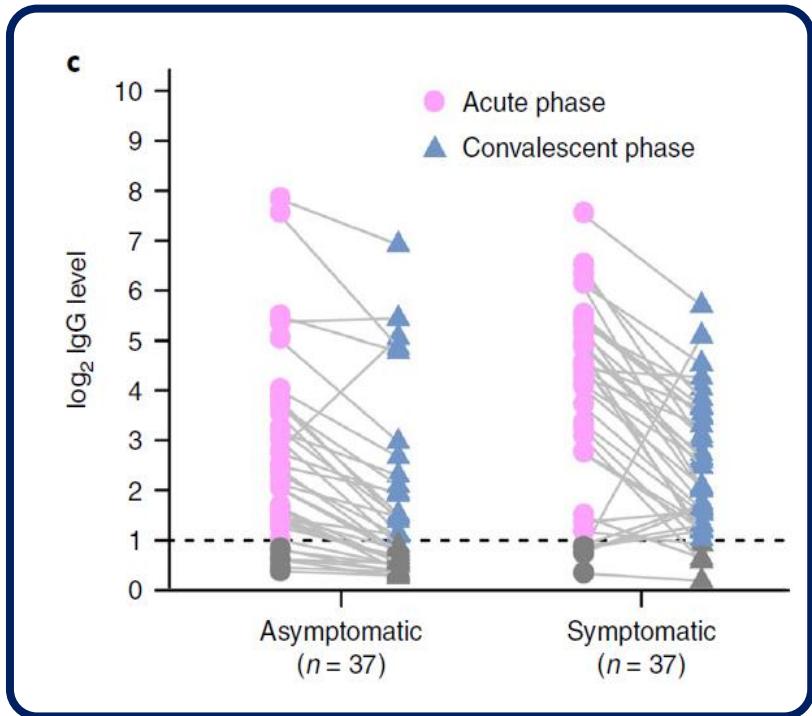


*The comparison of virus-specific antibody levels in asymptomatic patients (n = 37) and symptomatic patients (n = 37) with **acute infections***

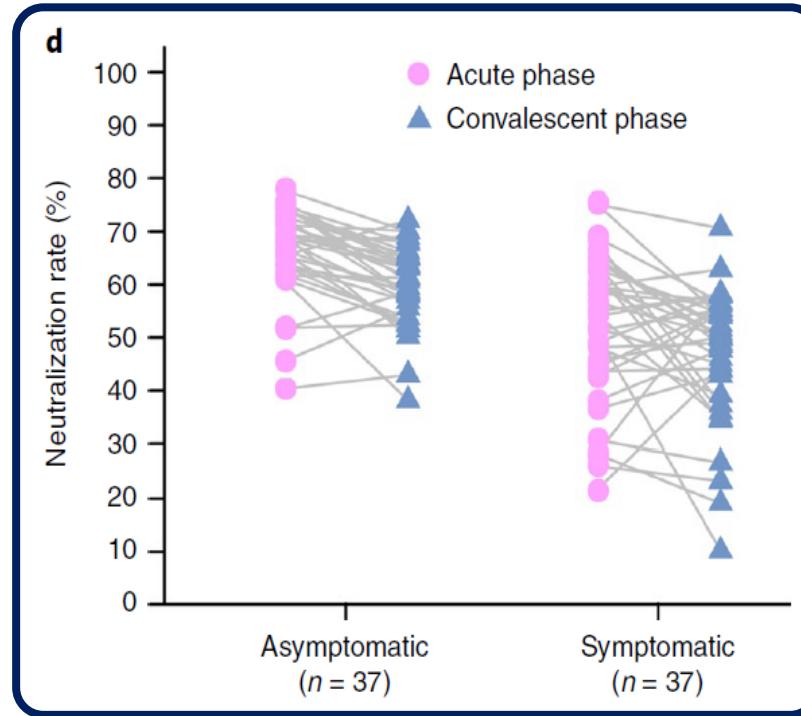


*Levels in patients with **convalescent-phase** COVID-19 who were discharged from the hospital*

Evolution of IgG levels in the symptomatic and asymptomatic cases in the early convalescent phase



*Dynamic changes in virus-specific
IgG levels in the acute and
convalescent phases*

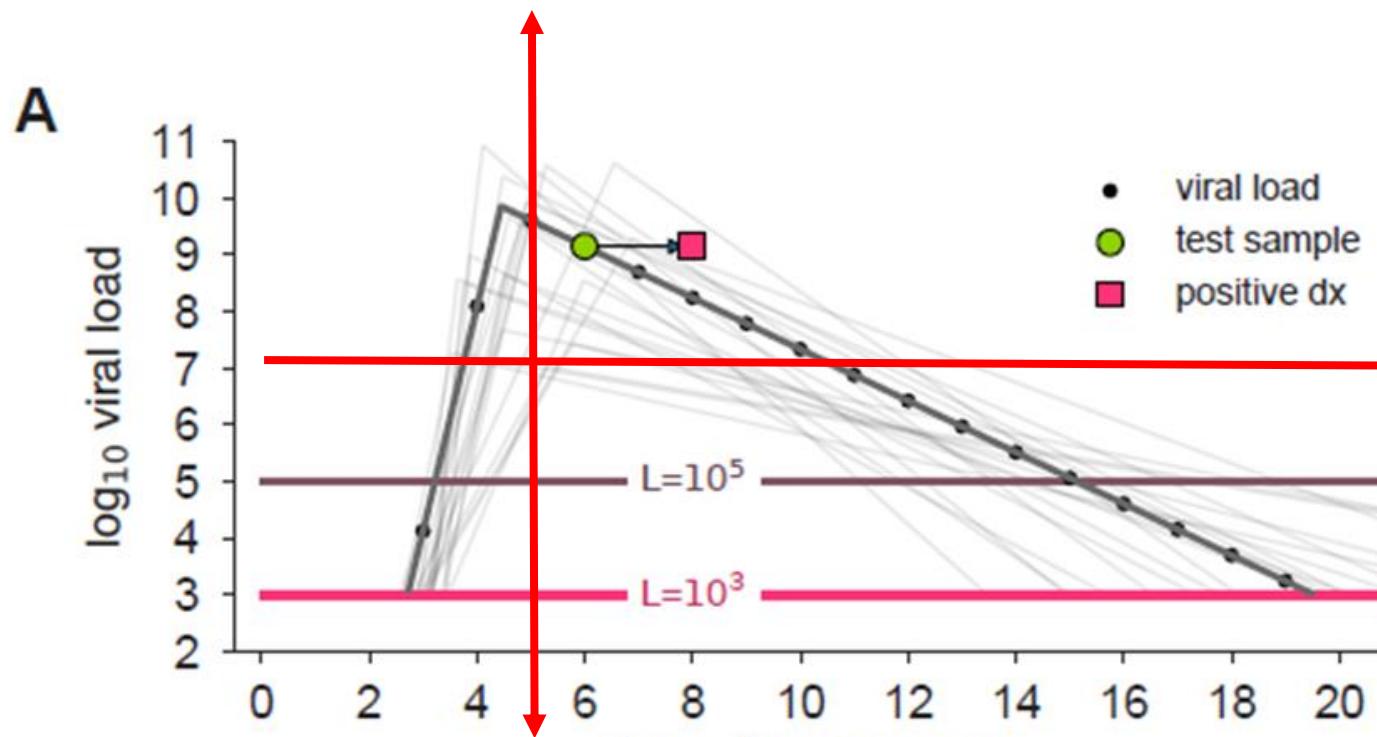


*Dynamic changes in **neutralizing**
serum antibodies in the acute and
convalescent phases*

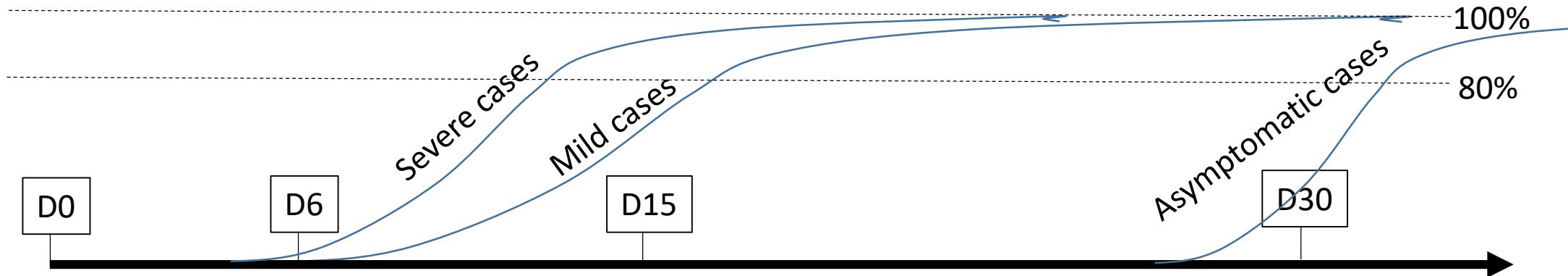
The IgG levels in **93.3%** (28/30) of the **asymptomatic** group and **96.8%** (30/31) of the **symptomatic** group **declined** during the early convalescent phase

Q.X Long et al ; Nat.Med. 2020

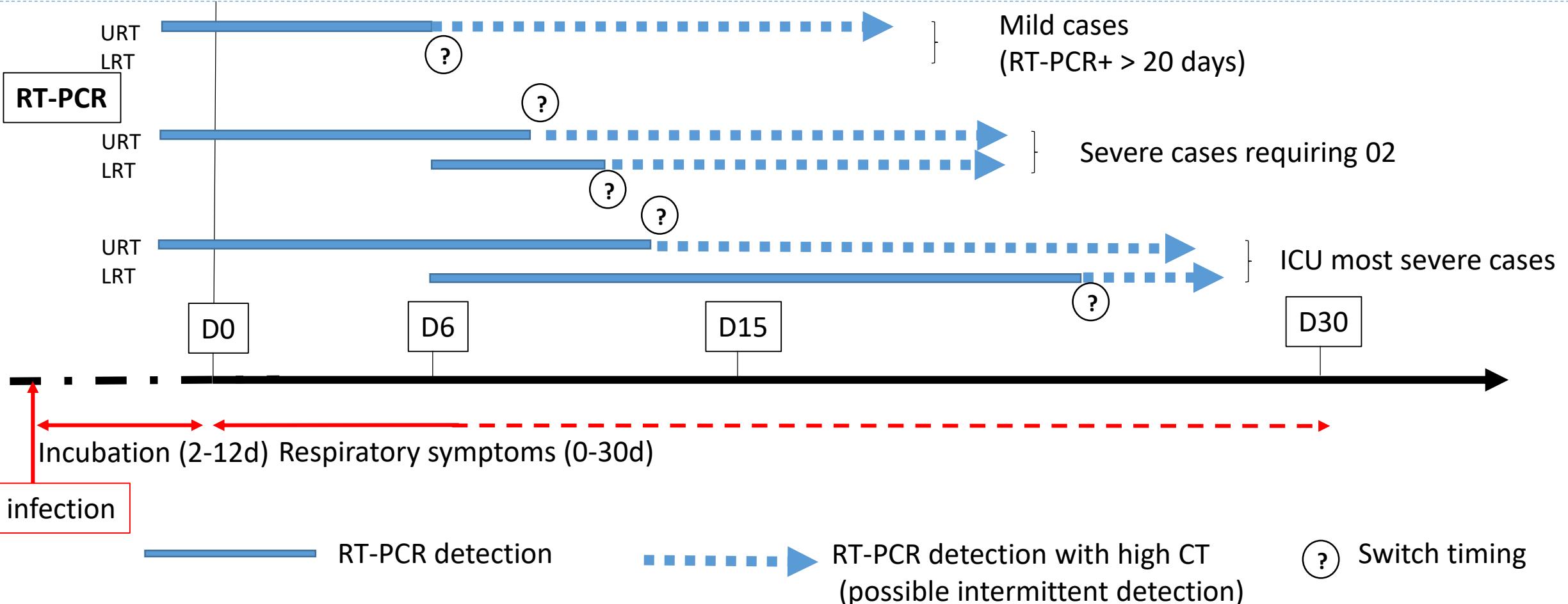
Stratégie diagnostique



serology



RT-PCR



Questions résiduelles

- Positionnement des tests alternatifs
 - LAMP
 - NGS
 - AG serique
 - Pooling en ddPCR
- Positionnement des prélèvements alternatifs
 - Prélèvements salivaires
 - Ecouvillons nasaux
 - Ecouvillons oro-pharyngés
 - Autres...
- Positionnement des systèmes de surveillance alternatifs
 - Mass testing avec antigènes
 - Mass testing avec NGS
 - Surveillance eaux usées



MERCI

Respiratory virus National Reference Center (NRC) :

NGS team

Antonin Bal (PhD Student)

Grégory Destras (PhD Student)

Grégory Quéromès (PhD Student)

Hadrien Regue (Bioinformatician)

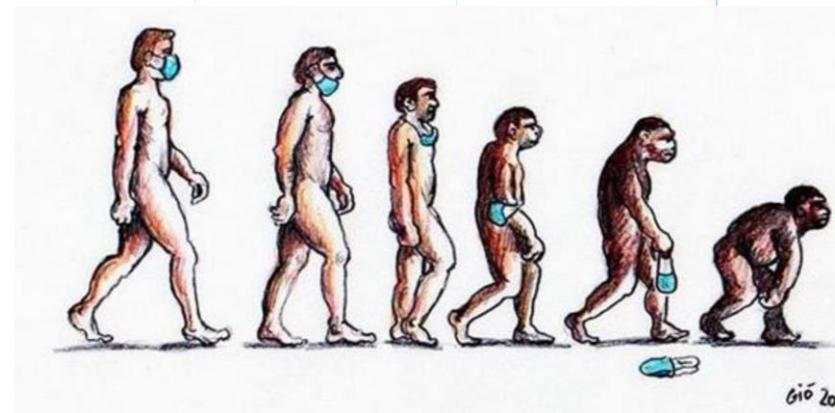
Gwendolyne Burfin (technician)

Solenne Brun (technician)

Pr Florence Morfin
Dr Alexandre Gaymard
Dr Emilie Frobert
Dr Martine Valette
Pr Bruno Lina

Public resources for SARS-CoV-2 genome analysis :

- GISAID
- NextStrain
- COV-GLUE



Virpath lab (Université de Lyon)

Dr Olivier Terrier

Dr Manuel Rosa-Calatrava

Mario Andres Pizzorno (Post-Doc)

Claire Nicolas de Lamballerie (Post-Doc)

Aurelien Traversier (technician)

HCL
HOSPICES CIVILS
DE LYON