



HAL
open science

Impact de la caractérisation des patients positifs au SARS-COV2 par LAMP-PCR délocalisée sur la gestion des flux aux urgences

Typhaine Carlo

► **To cite this version:**

Typhaine Carlo. Impact de la caractérisation des patients positifs au SARS-COV2 par LAMP-PCR délocalisée sur la gestion des flux aux urgences. Médecine humaine et pathologie. 2022. dumas-03716337

HAL Id: dumas-03716337

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03716337>

Submitted on 7 Jul 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

UNIVERSITÉ DE PARIS

Faculté de Santé

UFR de Médecine

Année 2021-2022

N°

**THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
DES MÉDECINE D'URGENCE**

Présentée et soutenue publiquement le : 05/04/2022

Par

Typhaine CARLO

Née le 24/08/1993 à Paris

**Impact de la caractérisation des patients positifs au SARS-COV2 par
LAMP-PCR délocalisée sur la gestion des flux aux urgences**

Dirigée par M. le Docteur EYER Xavier

JURY

M. le Professeur Patrick PLAISANCE

Président

M. le Docteur Xavier EYER

Directeur

M. le Docteur Nicolas POIROT

Membre du jury

Mme le Docteur Ghanima AL DANDACHI

Membre du jury

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2 - L 335.10

UNIVERSITÉ DE PARIS

Faculté de Santé

UFR de Médecine

Année 2021-2022

N°

**THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MEDECINE
DES MEDECINE D'URGENCE**

Présentée et soutenue publiquement le : 05/04/2022

Par

Typhaine CARLO

Née le 24/08/1993 à Paris

**Impact de la caractérisation des patients positifs au SARS-COV2 par
LAMP-PCR délocalisée sur la gestion des flux aux urgences**

Dirigée par M. le Docteur EYER Xavier

JURY

M. le Professeur Patrick PLAISANCE

Président

M. le Docteur Xavier EYER

Directeur

M. le Docteur Nicolas POIROT

Membre du jury

Mme le Docteur Ghanima AL DANDACHI

Membre du jury

Remerciements

À M. le Professeur Patrick PLAISANCE, Professeur des universités - Praticien hospitalier,

Vous me faites l'honneur de présider ce jury et de juger mon travail. Merci pour le temps que vous passez au service des étudiants afin de nous apporter une formation de qualité, et transmettre combien la médecine d'urgence est une discipline passionnante. Je vous témoigne ma profonde et respectueuse reconnaissance.

À M. le Docteur Xavier Eyer, Chef de clinique assistant des hôpitaux de Paris,

Je te remercie de m'avoir fait confiance et d'avoir accepté d'encadrer mon travail de thèse. C'est un honneur de travailler avec toi. Merci pour ta gentillesse et ta réactivité face à mes nombreuses inquiétudes et mes messages d'alerte SOS.

À M. le Docteur Nicolas Poirot, Praticien hospitalier, service SAMU-SMUR Necker

J'ai su que la médecine d'urgence était faite pour moi le jour où nous avons été envoyés sur une intervention au RER Cité Universitaire. Merci de m'avoir soutenue face à des déceptions professionnelles, et de m'aider à éclairer mes choix d'orientation et de formations. C'est un honneur que tu sièges à mon jury.

À Mme la Docteur Ghanima AL DANDACHI, Praticien hospitalier

Je suis touchée de la disponibilité dont tu as fait preuve afin d'être présente ce jour-ci. Merci à la "maman de Lariboisière" que tu es pour ta profonde gentillesse, pédagogie et bienveillance envers tes étudiants. C'est un honneur que tu sièges à mon jury.

A tous mes autres maîtres de stage et aux équipes paramédicales que j'ai rencontrés au cours de mon internat. Je suis reconnaissante pour votre accueil et pour tout ce que vous m'avez transmis.

A ma mère, qui m'a permis de réaliser mon rêve d'enfant. Merci pour ton amour, ton soutien et ta confiance indéfectible. J'espère continuer à réjouir ton cœur en voyant le fruit des sacrifices que tu as fait pour moi.

A la mémoire de mon père, ceci est ma plus belle résilience face à ta maladie.

A ma famille, merci pour votre soutien et vos encouragements.

A mes amis non carabins, ceux présents depuis vingt ans, ceux rencontrés en chemin et ceux perdus de vue. Merci à tous pour votre précieuse amitié et votre soutien, je suis chanceuse de vous avoir dans ma vie.

A mes confrères et amis, les randonneurs, la team à DD, Mouli et Tomi, Clara, Nathanael, Emmanuelle, Marta et l'équipe de la salle de réveil, merci pour nos francs moments de rigolade, et de déprime aussi ! Ces années m'auraient paru bien longues sans vous.

A Alexis, merci pour ta patience et ton humour. A notre futur nid. Je t'aime.

A mes anciens patients et à ceux à venir. Puis-je avoir la sagesse et l'humilité de vous soigner et de vous accompagner du mieux que je peux.

Guérir parfois, soulager souvent, écouter toujours.

Louis Pasteur

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire. Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément. Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés. J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque".

Résumé

Titre: Impact de la caractérisation des patients positifs au SARS-COV2 par LAMP-PCR délocalisée sur la gestion des flux aux urgences.

Introduction: La pandémie SARS-CoV2 a démontré la nécessité de développer des méthodes de biologie moléculaire permettant une détection rapide et efficace du virus. Plus particulièrement dans les services d'urgences, l'identification précoce des patients porteurs du SARS-CoV2 ayant souvent des manifestations cliniques difficiles à distinguer des autres infections respiratoires, permet un isolement et une inclusion dans une filière de soins spécifique. Cette étude évalue l'utilisation d'une technique de PCR délocalisée aux urgences pour l'identification des patients COVID positifs et son impact sur la rapidité de l'orientation des patients.

Méthode: Étude de cohorte rétrospective monocentrique au sein du service d'accueil des Urgences de l'hôpital Lariboisière. L'étude se déroule sur deux périodes, durant la première et la seconde vague épidémique en France. La méthode utilisée durant la première période du 1er mars au 1er mai 2020 est la méthode de référence, la RT PCR. Durant la seconde période, du 1er octobre 2020 au 1er décembre 2020, la méthode utilisée est la LAMP PCR.

Résultats: Les résultats ont démontré une différence non significative, concernant le temps de prise en charge total aux urgences, exprimé en heures, entre la première (17,47 [7,8 : 26,23]) et la deuxième période (21,01 [16,08 : 27,47]) ($p=0,124$). De même, le temps de prise en charge médicale total entre les deux périodes, n'est pas significatif avec une médiane à 16,33 [7 : 25,4] heures pour la première période et à 19,98 [12,53 : 26,45] heures pour la seconde ($p=0,177$).

Conclusion: Nous ne retrouvons pas de différence statistiquement significative, entre l'utilisation des deux méthodes de biologie moléculaire, pour la durée de prise en charge des patients positifs au SARS-CoV2.

Spécialité : diplôme d'études spécialisées en médecine d'urgence

Mots clés : SARS-CoV-2, COVID-19, RT-LAMP Rapid diagnostics, testing Direct RNA detection, Reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification, Polymerase chain reaction, emergency department, molecular diagnosis.

Abstract

Title: Impact of the characterization of SARS-CoV2 positive patients by LAMP-PCR delocalized for the emergency gestion room.

Introduction: The SARS-CoV2 pandemic has demonstrated the need the developed molecular biology methods allowing rapid and efficient detection of the virus. More specifically, in emergency departments where the early identification of patients with SARS-CoV2, often having clinical manifestations that are difficult to distinguish from other respiratory infections, allows isolation and inclusion in a specific care pathway. Our study aims to assess the average time to characterization of SARS-CoV2 positive patients in the emergency room, using two molecular biology methods : RT PCR and LAMP PCR.

Method: Monocentric retrospective cohort study in the Emergency Department of Lariboisière Hospital. The study takes place over two periods, during the first and the second epidemic wave in France. The method used during the first period from 1st of March and 1st of May, 2020 is the reference method, RT PCR. During the second period, from the 1st of October, 2020 to the 1st of December, 2020, LAMP PCR method was used.

Results: The results showed a non-significant difference in the total emergency care time, expressed in hours, between the first (17.47 [7.8 : 26.23]) and the second period (21.01 [16.08 : 27.47] (p=0.124). The total medical care time between the two periods is not significant with a median of 16.33 [7 : 25.4] hours for the first period and 19.98 [12.53 : 26.45] hours for the second (p=0.177).

Conclusion: In this monocentric setting, the emergency care time SARS-CoV2 positive patients seems not to be influenced by the PCR technique.

English keywords : SARS-CoV-2, COVID-19, RT-LAMP Rapid diagnostics, testing Direct RNA detection, Reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification, Polymeras chain reaction, emergency department, molecular diagnosis.

Liste des abréviations

- ICT : International Committee on Taxonomy of Viruses
- SARS CoV : severe acute respiratory syndrome-related coronavirus
- COVID 19 : Coronavirus Disease
- MERS-CoV : Middle-East respiratory syndrome-related coronavirus
- ORF : open reading frame
- ACE2 : Angiotensin-converting enzyme
- ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay
- TDR : test de diagnostic rapide
- POC : point of care
- SCA : syndrome coronarien aigu

Table des matières

REMERCIEMENTS.....	4
--------------------	---

LISTE DES ABREVIATIONS.....	9
-----------------------------	---

INTRODUCTION.....	12
-------------------	----

1. La pandémie SARS-CoV2.....	12
1.1 Aspect historique et classification.....	12
1.2 Microbiologie des coronavirus.....	14
1.2.1 Le matériel protéique.....	14
1.2.2 Le génome.....	15
1.2.3 Le processus de multiplication.....	16
1.3 Epidémiologie.....	20
1.4 Evolution des coronavirus.....	22
2. Les techniques de détection du SARS-CoV2.....	25
2.1 Tests virologiques.....	25
2.1.1 Biologie moléculaire.....	25
2.1.2 Tests antigéniques.....	27
2.2 Tests sérologiques.....	28
3. Section de variants.....	29
4. Tri des patients au service d'accueil des urgences.....	31

1. TESTS DE BIOLOGIE MOLECULAIRE DE

L'ETUDE.....	32
--------------	----

1.1 LA RT

PCR.....	32
----------	----

1.1.1 Technique biochimique.....	32
----------------------------------	----

1.1.2 Caractéristiques de la RT PCR.....	33
--	----

1.1.2.1 Délai et fenêtre de détection.....	33
--	----

1.1.2.2 Sensibilité et spécificité.....	33
---	----

1.2 LA LAMP

PCR.....	34
----------	----

1.2.1 Technique biochimique.....	34
----------------------------------	----

1.2.2 Caractéristiques de la LAMP PCR.....	36
--	----

1.2.2.1 Délai et fenêtre de détection.....	36
1.2.2.2 Sensibilité et spécificité.....	36
1.2.2.3 Technique utilisée dans l'étude.....	36
2. MATERIEL ET METHODES	37
2.1 TYPE ET OBJECTIF DE L'ETUDE.....	37
2.2 SELECTION DE PATIENTS.....	37
2.2.1 Critères d'inclusion.....	37
2.2.2 Critères de non inclusion.....	37
2.3 CRITERES DE JUGEMENT.....	38
2.4 INFORMATIONSTECHNIQUES.....	38
2.4.1 Recueil de données.....	38
2.4.2 Analyses statistiques.....	39
3. RESULTATS.....	40
4.	
DISCUSSION.....	45
CONCLUSION.....	47
BIBLIOGRAPHIE.....	49
TABLE DES FIGURES.....	53
TABLE DES	
TABLEAUX.....	54
PERMIS D'IMPRIMER.....	55

INTRODUCTION

1. La pandémie SARS-CoV2

1.1 Aspect historique et classification

Les coronavirus sont des virus qui infectent l'Homme et les espèces animales, telles que les mammifères et les oiseaux. L'appellation coronavirus est apparue tardivement initialement en 1971 par l'*International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICT).

Les premiers coronavirus humains ont été isolés en culture dans les années 1960, à partir de prélèvements respiratoires de patients présentant une infection respiratoire aiguë. Parmi les différentes souches isolées, seules deux (*Human coronavirus 229E* et *Human coronavirus OC43*) ont été adaptées à des cultures cellulaires, qui ont été retenues pour décrire les souches prototypes de coronavirus humains.

Le coronavirus associé à un syndrome de détresse respiratoire aigu sévère (SARS-CoV) a été identifié en mars 2003. Les recherches réalisées dans les laboratoires de biologie virologique ont permis l'identification des souches HCoV-NL63 et HCoV-HKU1 à partir de 2004, qui sont ubiquitaires et co-circulantes avec les premières souches isolées (*Human coronavirus 229E* et *Human coronavirus OC43*). La découverte du coronavirus associé au syndrome respiratoire du Moyen orient (MERS-CoV) en Arabie saoudite en 2012 confirme le haut potentiel d'émergence de ces virus.

La taxonomie des coronavirus a été régulièrement revue par l'ICT. Aujourd'hui, les coronavirus appartiennent à l'ordre des *Nidovirales* et à la famille des *Coronaviridae*, elle-même subdivisée en deux familles : les *Coronavirinae* et les *Torovirinae*. La figure 1 illustre la

famille des *Coronavirinae*, divisée en quatre genres appelés *Alpha-*, *Beta-*, *Gamma-* et *Deltacoronavirus*. Nous y retrouvons les coronavirus infectant l'humain.

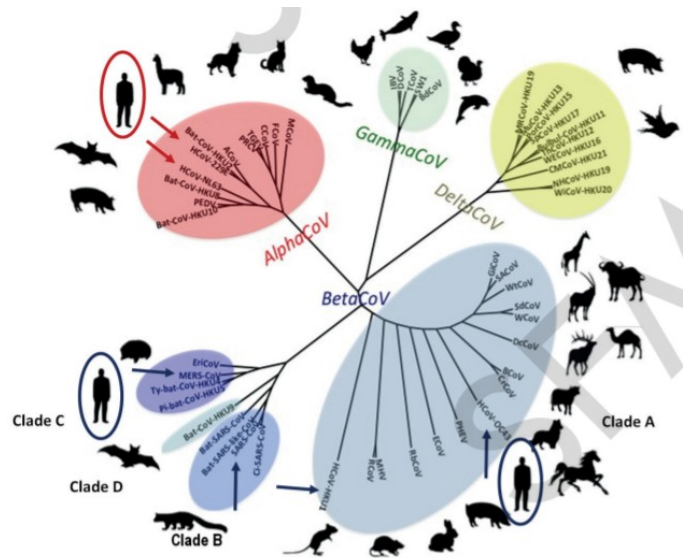


Figure 1 : Arbre Phylogénétique des coronavirus. Les coronavirus infectants l'humain sont entourés ou indiqués par une flèche (1).

Nous connaissons donc six coronavirus capables d'infecter l'humain ; quatre ubiquitaires responsables d'infection respiratoire basse et haute peu sévère, les HCoV dits "classiques" (HCoV 229E, HCoV OC43, HCoV-NL63 et HCoV-HKU1), et deux à pouvoir pathogène plus important d'émergence récente (SARS-CoV et MERS-CoV).

En décembre 2019, un cluster de pneumonie a été rapporté dans la ville de Wuhan en Chine. Le séquençage des cellules épithéliales des voies aériennes supérieures a mis en évidence un nouveau *Betacoronavirus2*, nommé SARS-CoV2 par l'ICT en raison d'une forte ressemblance génétique avec le SARS-CoV. Bien que le SARS-CoV-2 soit très proche d'un virus détecté chez la chauve-souris, l'animal à l'origine de la transmission à l'homme n'a pas encore été identifié.

Le SARS-COV2 est le septième coronavirus pathogène pour l'Homme. Il est responsable de la maladie Covid-19 (Coronavirus Disease 2019).

1.2 Microbiologie des coronavirus

1.2.1 Le matériel protéique

Les coronavirus sont des virus sphériques, dont l'enveloppe comporte des protéines de surface, disposées en couronne. La [Figure 2](#) illustre la représentation microbiologique des coronavirus infectant l'humain.

La protéine S est une protéine de fusion de type I organisée en trimères. Elle est divisée en deux parties. La partie S1 (partie globulaire) permet la liaison du virus à son récepteur cellulaire, et présente une grande diversité génétique. La partie S2 (partie tige) assure la fusion des membranes cellulaires et virales lors de l'entrée du virus dans la cellule. La nucléocapside a une structure tubulaire à symétrie hélicoïdale, ce qui est exceptionnel chez les virus à ARN de polarité positive. On trouve des protéines structurales, les protéines M et les protéines E, qui constituent la matrice et l'enveloppe. Ces dernières assurent un rôle dans la phase d'assemblage de la particule virale, et porteraient des facteurs de virulence.

Il est à noter que les *Betacoronavirus de classe A* portent une protéine de surface appelée hémagglutinine-estérase (HE). Elle est homologue à 30% de la protéine HE du virus influenza C. Elle n'est pas nécessaire à l'entrée du virus dans la cellule. Son activité acétylsterase lui confère un meilleur relargage des cellules virales à partir des cellules infectées, favorisant ainsi la diffusion de l'infection.

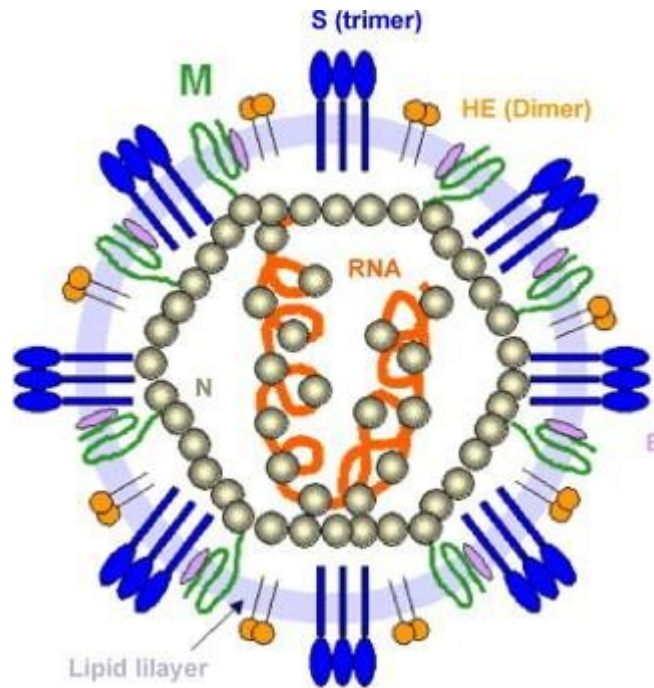


Figure 2 : Représentation microbiologique d'un coronavirus (1)

1.2.2 Le génome

Le génome des coronavirus est une molécule linéaire monocaténaire non segmentée de polarité positive, comme illustré sur la Figure 3. Il s'agit du plus grand ARN viral connu dont l'organisation génomique est conservée parmi toutes les espèces de coronavirus. Sa caractéristique principale est sa taille, qui est de 27 000 à 31 000 nucléotides. Il est constitué de deux régions non codantes en 5' et 3', et d'un nombre variable de cadre de lecture ouvert (ORF), environ seize. (2) Les deux tiers de l'ARN viral sont situés dans le premier ORF (ORF1a/ORF1b), et codent pour seize protéines non structurales. Le reste du génome viral code pour des protéines structurales, comme la glycoprotéine, la protéine d'enveloppe (E), la protéine matricielle (M), la protéine nucléocapside (N), et les protéines accessoires, qui interfèrent avec la réponse immunitaire de l'hôte.



Figure 3 : Représentation schématique d'un génome de Betacoronavirus de classe A. On observe le complexe réplication/transcription codé par les gènes ORF1a et ORF1b. Les gènes codant les protéines de structure, sont toujours dans le même ordre : HE/S/E/M/N, les protéines non structurales, sont en nombre et position variable, selon les espèces de coronavirus (2).

L'étude de *Wu et al.* a démontré une similitude génomique entre le SARS-CoV2 et le SARS-CoV (3). Le SARS-CoV2 partage une séquence génomique identique à 80% avec le SARS-CoV et à 50% avec le MERS-CoV (4). L'étude de *Tang et al.* a analysé 103 génomes de patients infectés par le SARS-CoV2, et a permis d'identifier deux souches de SARS-CoV-2 : la souche L et la souche S. La souche L est plus agressive et contagieuse (5).

1.2.3 Le processus de multiplication

Le cycle de multiplication du SARS-CoV2 dans la cellule, représenté par la Figure 4, comporte les étapes d'attachement, de pénétration et de décapsidation, puis les synthèses des acides nucléiques et des protéines. Ces synthèses vont permettre l'assemblage des nucléocapsides, puis l'enveloppement et la libération des virions infectieux, en même temps qu'une lyse de la cellule infectée.

La première étape consiste à l'attachement du virus au récepteur de la cellule cible, grâce à une interaction de haute affinité entre la partie globulaire de la protéine de surface (S1) et le récepteur cellulaire de l'hôte, l'ACE2 (Angiotensin-converting enzyme).

L'ACE2 est une enzyme de conversion des récepteurs cellulaires de l'angiotensine II. Elle est présente sur les cellules épithéliales AT2, situées dans les alvéoles pulmonaires, mais aussi dans l'œsophage, dans les entérocytes absorbants de l'iléon, du côlon et dans le pancréas.

Le clivage de la protéine S par les protéases de la cellule hôte permet la fusion des membranes cellulaires et virales. Ainsi, l'ARN viral est libéré dans le cytoplasme, où il est traduit en deux polyprotéines, constituant la seconde étape du cycle de multiplication. Les polyprotéines pp1a et pp1b forment le complexe réplicase transcriptase nécessaire à la multiplication du génome viral. On y retrouve l'ARN réplicase (RdRp) qui permet d'obtenir de nouvelles copies du génome viral. Des transcrits viraux codant pour les protéines structurales sont également produits. La protéine N permet la reconnaissance et l'empaquetage du génome viral répliqué pour former la nucléocapside. La nucléocapside interagit alors avec la protéine M pour initier la formation de la nouvelle particule virale. La troisième étape consiste en l'insertion des protéines virales dans la membrane du réticulum endoplasmique. Les virus ainsi formés sont acheminés à la surface de la cellule infectée en suivant la voie de sécrétion (appareil de Golgi puis vésicules sécrétoires) puis libérés dans le milieu extracellulaire par exocytose prêts à infecter d'autres cellules.

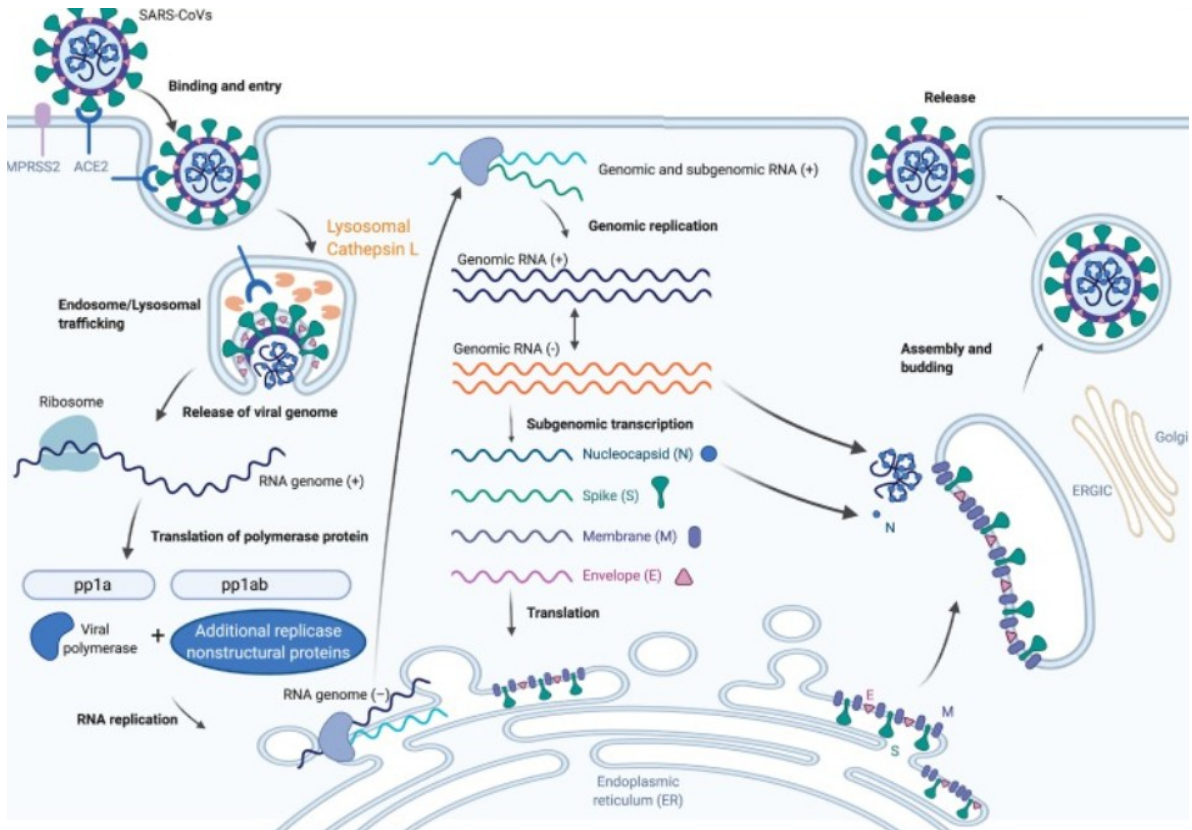


Figure 4 : cycle de multiplication d'un coronavirus (5)

Le tropisme viral dépend de la sensibilité et de la permissivité d'une cellule hôte spécifique. Au cours du SARS-CoV2, les patients présentent le plus souvent une atteinte respiratoire, suggérant que le poumon est le tropisme principal de ce virus. Les deux coronavirus humains se lient au même récepteur d'entrée, l'ACE2.

L'étude de *Hoffman* (6) démontre la nécessité de la présence de sites multiples de clivage sur le site S1/S2 pour une protéolyse efficace du SARS-CoV2 dans les cellules humaines, et confère une haute clivabilité à son descendant le SARS-CoV qui ne nécessite qu'un site de clivage. La présence d'un site unique de clivage de la furine à la jonction entre la protéine S1 et la protéine S2 du SARS-CoV2, est possiblement responsable d'une transmission humaine accrue (7). L'isolat prédominant du SARS-CoV2 dans le monde porte une mutation D614G, absente du SARS-CoV, le rendant plus infectieux, sous-entendant son rôle dans une transmission interhumaine accrue. Cette mutation n'est cependant pas corrélée à la gravité

de la maladie, suggérant que la pathogenèse du SARS-CoV2 est liée à d'autres mécanismes (8).

Chaque coronavirus humain se lie à des récepteurs cellulaires identifiés, présentés dans la Figure 5. Les sites de liaison au récepteur au sein de la protéine S sont variables dans l'espèce des coronavirus. La molécule ACE2 est utilisée comme récepteur du SARS-CoV2, du SARS-CoV et du HCoV-NL63, avec des domaines de liaison bien distincts.

Coronavirus humains	Année d'identification du virus	Récepteur cellulaire identifié	Site de liaison au récepteur sur la protéine S
HCoV-229E	1966	Aminopeptidase N (hAPN)	407-547
HCoV-OC43	1967	N-acetyl-9-O-acetyl neuraminic (NEU 5,9 AC2)	Non connu
SARS-CoV	2003	Enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE2)	303-537
HCoV-NL63	2004	Enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE2)	476-616
HCoV-HKU1	2005	Non connu	Non connu
MERS-CoV	2012	Dipeptidyl peptidase 4 (DPP4)	358-588

Figure 5 : Tableau des récepteurs cellulaires identifiés et acides aminés composant le site de liaison au récepteur cellulaire sur la protéine S pour les différents coronavirus humains (HCoV) et coronavirus émergents. (3)

1.3 Epidémiologie

La transmission interhumaine est le plus souvent directe, par voie respiratoire, via les gouttelettes et les sécrétions produites lors de la respiration et de la toux. Le virus peut également pénétrer dans l'organisme par voie indirecte, de façon manuportée, ou par du matériel contaminé. La transmission verticale de la mère à l'enfant n'est pas démontrée, cependant plusieurs cas de transmission post natale ont été rapportés. (9,10).

La dissémination virale aérienne semble peu fréquente, ainsi que la transmission indirecte manuportée ; cependant, ces voies de transmission doivent être prises en compte pour le contrôle des épidémies, notamment en milieu de soins. Les études de survie du virus ou de maintien de l'infectiosité dans l'air, sont rares et difficiles. Les personnes infectées par le SARS-CoV2 sont essentiellement celles qui ont eu un contact rapproché avec un cas (vie commune ou prise en charge). Le port de masque et le lavage des mains sont les mesures de prévention les plus efficaces (11).

L'infectiosité des coronavirus dans le milieu extérieur est dépendante des conditions environnementales. Elle est de quelques heures, mais peut atteindre plusieurs jours. L'absence de standardisation et de maîtrise de nombreux paramètres, rendent difficilement comparables les données de la littérature. Il est admis que les coronavirus perdent leur infectiosité au contact des désinfectants les plus communément utilisés (12).

Le potentiel de contagiosité est évalué par le taux de reproduction, appelé R_0 . Il correspond au nombre moyen de sujets, auquel un malade risque de transmettre la maladie dans une population non immunisée contre le virus. Quand le R_0 est supérieur à 1, la maladie tend à s'étendre d'elle-même en l'absence d'action.

Des études (13) supposent que, le risque de contamination est plus important les premiers jours d'apparition des signes cliniques, et pourrait persister durant plus de trois semaines.

La période d'incubation correspond à l'intervalle entre la date d'un premier contact potentiel avec un patient suspect ou confirmé de SARS-CoV2, et la date d'apparition des signes cliniques. Cette période varie de deux à quatorze jours avec une médiane évaluée à cinq jours. Le risque de transmission est maximum lors de l'apparition des symptômes.

La symptomatologie clinique est très hétérogène, et beaucoup de personnes infectées sont asymptomatiques. La nature et la sévérité des symptômes sont variables. Nous retrouvons, le plus fréquemment, des signes classiques d'une infection respiratoire, telle que la fièvre et la toux pouvant évoluer vers une dyspnée. D'autres symptômes ont été décrits, comme des myalgies, des céphalées, des diarrhées, des nausées et des vomissements. La survenue brutale d'une anosmie ou d'une agueusie en l'absence de rhinite, est également pathognomonique. Sur le plan dermatologique, certaines personnes développent un érythème, et plus rarement des engelures notamment au niveau des orteils. Des études suggèrent que ces dernières pourraient découler d'une immunité très voire trop efficace contre le SARS-CoV2.

L'évolution est favorable dans environ 80% des cas, les symptômes restent légers ou modérés et disparaissent en 5 à 14 jours. Chez les patients présentant une dyspnée, l'oxygénothérapie peut être nécessaire et requiert une hospitalisation. La plupart des formes graves se développent au cours de la deuxième semaine suivant l'apparition des symptômes, lors de la survenue d'un syndrome hyper inflammatoire. D'autres complications peuvent survenir, comme des événements thrombo-emboliques, des troubles du rythme cardiaque et des surinfections bactériennes.

Il est admis que le processus de vieillissement prédispose les individus à certaines maladies infectieuses. Dans le SARS-CoV2, l'âge est associé à une morbidité plus sévère, à une

admission en soins intensifs, à une progression vers le syndrome de détresse respiratoire aiguë, à des fièvres plus élevées et à des taux de mortalité plus élevés (14). De plus, un syndrome inflammatoire biologique et une coagulopathie (15) ont été systématiquement signalés chez les patients plus âgés (> 65 ans), par rapport aux patients jeunes et d'âge moyen atteints de SARS-CoV2 (16). Au niveau cellulaire, une capacité plus faible des cellules T CD4+ et CD8+ à produire de l'IFN- γ et de l'IL-2, ainsi qu'une altération de l'activation des cellules T par les cellules dendritiques est observée chez les patients atteints du SARS-CoV2. Cela compromet une réponse immunitaire adaptative optimale (17).

Des proportions plus élevées de macrophages et de neutrophiles pro inflammatoire (18), ont également été observées dans le liquide de lavage broncho alvéolaire des patients présentant une forme grave du SARS-CoV2. La présence d'un orage cytokinique est donc corrélé à la gravité de la présentation clinique.

1.4 Evolution des coronavirus et détection des variants

Les coronavirus ont une plasticité génétique responsable d'une grande diversité génétique. En effet, plusieurs paramètres interviennent dans leur mode évolutif ; la génération de nombreux mutants, la capacité à établir des infections persistantes, la possibilité de délétions importantes étant donné la présence de nombreux cadres de lecture, la grande flexibilité du génome, la capacité à franchir les barrières d'espèces et à s'adapter au nouvel environnement. Les deux modes d'évolution majeurs des coronavirus sont les mutations et les recombinaisons.

L'ARN génomique est répliqué par une ARN polymérase ARN dépendant, dépourvue de système de correction d'erreur, et générant de nombreux mutants. La grande taille du

génomique permet l'émergence de variants avec de larges délétions, et l'utilisation de ces virus comme vecteurs viraux. L'exemple le plus connu est l'émergence du coronavirus porcin respiratoire ou PRCV, dans les années 1980. Le PRCV est un variant spontané du coronavirus porcin entérique ou TGEV. Il présente une délétion en phase de 672 nucléotides (224 acides aminés) dans le gène codant la protéine S1. Une des conséquences biologiques de cette grande délétion est le changement de tropisme du virus qui, d'entérique pour le TGEV, est devenu respiratoire pour le PRCV (19).

L'autre mode évolutif des coronavirus est la recombinaison génétique. Ce phénomène est fréquent chez les virus à ARN positif, grâce au mode discontinu de la transcription. La recombinaison correspond à l'échange de matériel génétique. Elle peut être homologue si elle a lieu entre deux génomes de coronavirus, ou hétérologue si elle intéresse d'autres gènes viraux ou cellulaires. De nombreuses formes recombinantes ont été décrites *in vitro* et *in vivo* chez les coronavirus. Par exemple, l'étude *Herrewegh et al.* (20) a démontré, que les coronavirus félines de type II sont le résultat d'une double recombinaison entre coronavirus félines de type I et coronavirus canins, faisant suite à un franchissement de barrière d'espèces dans le sens chien-chat.

De nombreuses données moléculaires sur les coronavirus ont été publiées à partir de 2003, notamment sur le groupe 2a. L'hypothèse d'un réservoir animal a été retenue dès l'identification du SARS-CoV.

Le séquençage complet du génome du HCoV-OC43 en 2005 par *Vijgen et al.* (21) (22) a objectivé une correspondance estimée à plus de 90 % d'identité nucléotidique avec les coronavirus bovins, et que le gène E aurait été acquis par suite d'une recombinaison entre le coronavirus porcin du groupe 2 et le virus de l'encéphalite hémagglutinante. Ces données

suggèrent fortement une émergence de HCoV-OC43 dans la population humaine secondaire à une transmission inter-espèces, dans le sens bovins – humains.

Plusieurs coronavirus appartenant au groupe 2a, et au même lignage moléculaire que HCoV-OC43 et BCoV (23) ont été décrits récemment chez l'élan, le buffle, la girafe, le cheval, et le chien. Il semble donc que ces coronavirus du groupe 2a « BCoV-like », aient un spectre d'hôtes très large chez les mammifères sauvages et d'élevages, et possèdent un fort potentiel de passage interspécifique.

Des chauves-souris du genre *Rhinolophus* ont été identifiées, comme étant le réservoir naturel de SL-CoV par deux équipes indépendantes. (24) (25) Le *bat* SL-CoV a été détecté par RT-PCR chez l'espèce *Rhinolophus sinicus*, à partir de prélèvements anaux réalisés dans l'habitat naturel. Les séquences complètes de six génomes *bat* SL-CoV sont disponibles : le pourcentage de similarité des séquences *bat* SL-CoV entre elles est de 89–90 %, et avec les séquences *civets* SL-CoV et SARS-CoV, de l'ordre de 87 à 92 %. Les régions les plus variables sont le gène S (similarité 76–78 %) et l'ORF8.

L'hypothèse actuellement retenue est l'existence d'un réservoir naturel de SL-CoV chez les chauves-souris. Ces animaux, seuls mammifères volants, constituent à eux seuls 20 % de l'ensemble des mammifères, et sont répartis sur tout le globe. Ils constituent le réservoir de nombreux virus émergents ou réémergents dans la population humaine : virus Hendra, virus Nipah, virus Ebola.

2. Les techniques de détection du SARS-CoV2

La pandémie de SARS-Cov2 a illustré l'importance de tests de diagnostics simples, rapides et précis, non seulement pour la prévention et le contrôle de la pandémie, mais également pour la mise en route de traitement adapté dans une filière de soins spécifiques.

Nous connaissons les tests virologiques, recherchant directement le virus par de multiples techniques détectant différents composants du virus, comme son ARN par test RT-PCR ou certaines de ses protéines par tests antigéniques. Ces tests virologiques peuvent être utilisés par plusieurs types de prélèvements ; prélèvement nasopharyngé, prélèvement nasal, prélèvement oropharyngé ou test salivaire. Les tests sérologiques ont pour objectif de déterminer une infection ancienne du virus, en recherchant des anticorps produits par l'organisme lors de l'infection. Ils se font par prise de sang ou à partir d'un prélèvement capillaire.

2.1 Tests virologiques

2.1.1 Biologie moléculaire

La détection du génome du virus SARS-CoV-2 sur prélèvement nasopharyngé est le test de référence pour le diagnostic et le dépistage de l'infection à SARS-CoV-2, compte tenu de son efficacité en termes de sensibilité et de spécificité. Il permet de déceler de faibles quantités de virus, et de dépister les infections de façon précoce ou présentant de faibles charges virales. Les résultats sont généralement connus dans les 24 à 48 heures.

La PCR est une méthode permettant de produire in vitro et rapidement (en 45 à 90 mn) un très grand nombre d'exemplaires d'une petite partie du génome d'un organisme. Ces

milliards de copies identiques peuvent être utilisées pour de nombreuses applications (détection, génotypage, clonage, séquençage, quantification), qui seraient impossibles avec les quelques matrices initialement présentes dans le milieu réactionnel. La PCR correspond à une succession de cycles de réplication (entre 25 et 40) spécifique d'une molécule d'ADN matrice. Elle utilise une ADN polymérase et des petits morceaux d'ADN simple brin, appelés amorces, qui bornent la séquence à amplifier. La détermination de ces amorces est une étape importante, car elle a un impact direct sur la spécificité et la sensibilité de la PCR.

Il existe deux grands types de PCR. D'une part, la technique dite « en point final », dans laquelle le manipulateur analyse le fragment amplifié à la fin des 25 à 40 cycles. Cette méthode ne peut pas être utilisée pour faire de la quantification, la quantité de produit final n'étant pas proportionnelle à la quantité de matrice initiale. Le deuxième groupe de techniques dites « quantitatives » permet de déterminer la quantité de matrice initiale. La technique quantitative la plus répandue, appelée PCR en temps réel, utilise des molécules fluorescentes pour suivre à chaque cycle la quantité de produit formé.

Il existe également une méthode de détection dite LAMP, désignée comme une méthode de détection rapide. Elle permet de s'affranchir des thermocycleurs et du personnel qualifié nécessaire à leur fonctionnement. Cette méthode est plus rapide que la PCR et est très spécifique. Le principe de cette méthode est de générer à partir du génome viral un fragment d'ADN, qui va pouvoir s'amplifier à une température constante.

2.1.2 Tests antigéniques

Les tests antigéniques détectent une protéine du virus SARS-CoV-2, généralement la protéine de nucléocapside NP. L'efficacité de la détection des antigènes viraux semble corrélée à la charge virale, et donc indirectement au nombre de cycle d'amplification de la RT-PCR, elle-même diminuant avec le nombre de jours après l'apparition des symptômes. Il est donc admis de ne prendre en considération que les résultats obtenus durant les sept jours suivant l'apparition des symptômes.

Le développement de tests antigéniques rapides sur prélèvement nasopharyngé et salivaire permet d'obtenir un résultat rapide, entre 15 et 30 minutes. Ils sont faciles d'utilisation et d'interprétation contrairement aux tests sérologiques pouvant détecter différents isotypes. Comparativement au test de référence, l'objectif des tests antigéniques automatisés est de permettre à la fois une réduction du coût des tests, une réduction du temps d'analyse, et une augmentation des capacités d'analyse.

D'après l'OMS, les tests antigéniques rapides du SARS-CoV-2 ont une sensibilité $\geq 80\%$ et une spécificité $\geq 97\%$ par rapport au test RT-PCR de référence. Ils peuvent être utilisés pour diagnostiquer une infection à SARS-CoV-2, quand les RT-PCR ne sont pas disponibles, ou que l'utilité clinique du dépistage serait compromise par des délais trop longs d'obtention des résultats. Les tests antigéniques ne sont pas recommandés chez les cas asymptomatiques, sauf chez les cas-contacts d'un cas confirmé. Par ailleurs, l'OMS ne recommande pas l'utilisation des tests rapides antigéniques pour éviter les faux-positifs. Ainsi, les tests antigéniques ne sont pas recommandés comme outil de surveillance en condition de faible circulation du virus. Dans ce cas-là, le test par RT-PCR reste le test de référence.

2.2 Tests sérologiques

Après avoir été infecté par le SARS-CoV2, la plupart des individus développent une réponse immunitaire objectivable par la production d'anticorps dirigés contre le virus. Ces tests ne permettent cependant pas de statuer sur la contagiosité, et la présence d'anticorps n'est pas synonyme d'immunité. Il est donc admis que les tests sérologiques ont une place dans la surveillance épidémiologique, afin d'identifier les personnes ayant été en contact avec le virus, mais ne détermine pas celles potentiellement protégées par le virus.

La sérologie permet donc la mesure qualitative ou semi-quantitative de la production d'anticorps produits par l'organisme contre le virus, à partir d'un prélèvement sanguin. Elle peut être réalisée au moyen de tests automatisables (de type enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) par exemple) ou de tests unitaires rapides (généralement immunochromatographiques). Seuls les tests ELISA peuvent être qualitatifs ou semi-quantitatifs, les tests unitaires étant uniquement qualitatifs.

Les tests unitaires peuvent être réalisés à partir d'un prélèvement capillaire, en laboratoire (on parle de TDR, tests de diagnostic rapide), mais aussi en pharmacie, en cabinet médical ou à domicile (Test rapide d'orientation diagnostique ou autotests). Ils apportent des informations sur la présence de différents types d'anticorps (IgM et IgG le plus souvent). Le résultat, simplifié, indique seulement la présence d'anticorps par rapport à un seuil minimal : en dessous de ce seuil, le test est négatif, au-dessus, il est positif. Les résultats sont connus en une vingtaine de minutes, mais la fiabilité de ce type de test est variable selon les fabricants et plus basse qu'avec les autres méthodes.

3. Section de variants

Le séquençage du génome complet du SARS-CoV2 a été une étape essentielle afin de déterminer les amorces spécifiques pour le détecter. Les ARN du génome viral sont extraits et transformés en ADN. Les réactions PCR sont réalisées à partir de cette étape et comportent quatre réactions : deux cherchent chacune une partie différente du génome du SARS-CoV2 afin de diminuer les faux négatifs et faux positifs. Les deux autres réactions PCR sont des contrôles qui garantissent, que les réponses négatives ou positives à la détection du SARS-CoV2 ne résultent pas d'une erreur du personnel de laboratoire ou d'un mauvais fonctionnement du thermocycleur.

La transcription inverse par amplification en chaîne par polymérase, permet une détection sensible de séquences spécifiques de gènes qui codent pour les protéines ARN polymérase dépendantes (RdRP), nucléocapside (N), enveloppe (E), et pointe (S) du virus. Les séquences cibles sont illustrées sur la Figure 6.

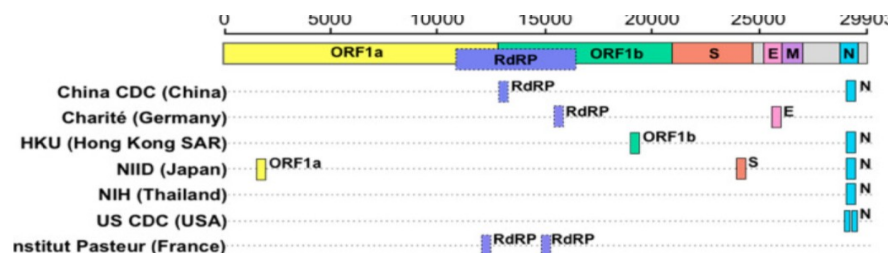


Figure 6 : Organisation génomique du SARS-CoV2 et position des chaînes cibles utilisées pour les réactions RT-PCR (26)

L'apparition de variants avec modifications génétiques du génome du SARS-CoV2 ont été décrites.

La première variante de délétion de 382 nucléotides a été détectée à Singapour en janvier 2020. Cette délétion tronque le cadre de lecture ouvert ORF7b et ORF8, supprimant ainsi la séquence régulatrice de la transcription ORF8 et donc la transcription de ORF8. Cette même délétion a été détectée à Taiwan. D'autres variants comportant des délétions ORF7b/8 de différentes longueurs, allant de 62 à 345 nucléotides ont été observées dans d'autres régions géographiques, comme en Australie, au Bangladesh et en Espagne.

Des mutations ou des suppressions de l'ORF8 (27), représentées sur la [Figure 7](#), ont été associées à une réduction de la capacité de réplication et à une atténuation du virus. En revanche, il a été démontré que les virus SARS-CoV2 avec une délétion de 382 nucléotides ont une aptitude répliquative in vitro significativement plus élevée que le type sauvage, sans modification de la charge virale associée. Les virus variants de délétion conservent donc leur aptitude à la réplication.

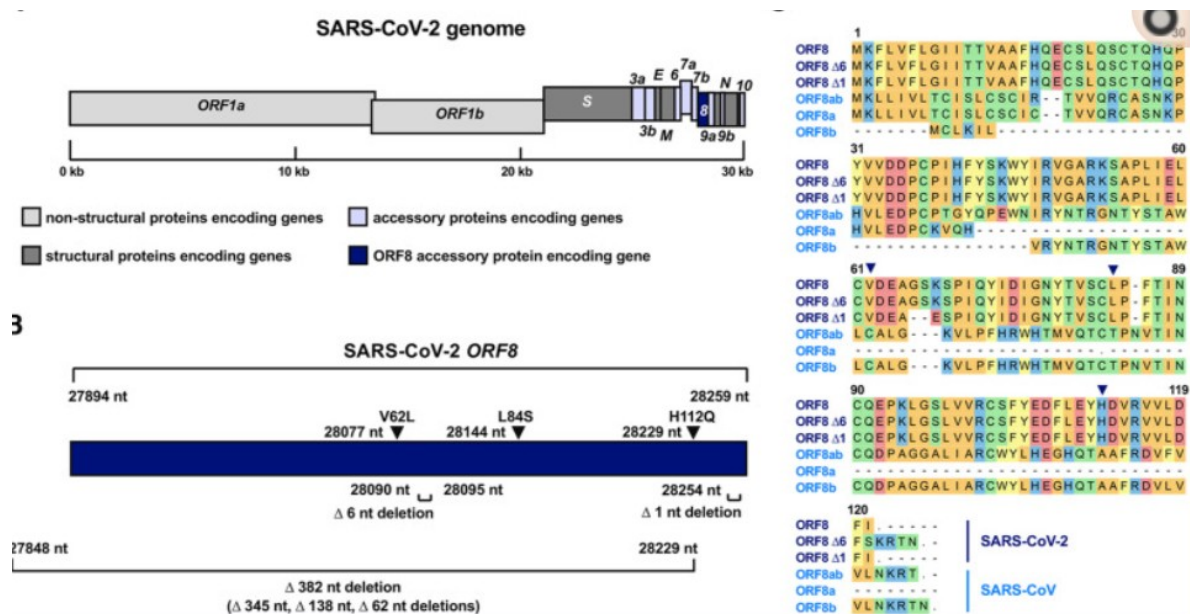


Figure 7 : mutation du gène ORF8 du SARS-CoV2 (28)

En France, la première détection de variant a eu lieu en décembre 2020. Il s'agit d'une suppression de pointe (S) H69-V70, dont la délétion est associée à un échec de la cible du gène S (SGTF) dans le test RT-PCR à trois cibles. L'impact sur la pathogénèse de cette délétion n'est pas clairement identifié, mais des mesures de séquence de détection adaptée doivent ainsi être mises en place.

4. Tri des patients au service d'accueil des urgences

Le développement de différentes techniques d'identification du virus a été ainsi mis en place, afin de répondre aux enjeux de santé publique.

Nous avons observé dans les services d'accueil des urgences une réelle difficulté à identifier précocement les patients porteurs du SARS-CoV2, afin de les isoler et de les inclure dans une filière de soins spécifiques. L'augmentation du nombre d'hospitalisation conventionnelle et en réanimation a eu un large retentissement sur le flux et le tri des patients aux urgences.

A l'heure actuelle, il n'existe aucune donnée scientifique quant à la méthode de biologie moléculaire, qui permet une caractérisation la plus rapide possible du statut SARS CoV2 aux urgences.

Partant de l'ensemble de ces observations, nous avons réalisé une étude rétrospective monocentrique, dont l'objectif principal est de comparer les délais moyens de caractérisation dans un service d'accueil des urgences des patients positifs au SARS-CoV2 avec l'utilisation de la RT-PCR (1 mars au 31 mai 2020) versus l'utilisation de la LAMP-PCR (1 octobre au 31 décembre 2021). Le bénéfice est d'inclure le patient dans une filière de soins spécifiques le plus rapidement possible, afin de lui administrer un traitement adapté le plus

tôt possible et de protéger les patients indemnes, permettant de limiter la propagation du virus.

1 : TEST DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE DE L'ÉTUDE

1.1 La RT PCR

La RT PCR est la méthode diagnostique de référence de détection du SARS-CoV2 à partir d'un prélèvement nasopharyngé. C'est la technique la plus largement utilisée pour l'analyse qualitative et quantitative des virus, y compris les coronavirus. (29)

1.1.1 Technique biochimique

La Figure 8 illustre sa technologie, qui consiste à détecter l'ARN viral par transformation en ADN complémentaire via la transcriptase inverse. L'amplification d'ADN est soumise à des méthodes de détection ou d'analyses spécifiques comme l'électrophorèse ou le séquençage.

Les amorces sont synthétisées en laboratoire à partir de séquence génomique spécifique du SARS-CoV2. Elles correspondent à des séquences situées sur trois gènes ; gène E (codant pour une protéine de l'enveloppe du virus), gène N (codant pour une protéine de la capsule du virus) et gène RdRp (codant pour une enzyme capable de répliquer l'ARN du virus). Cette technique est réalisée par un automate de biologie moléculaire de laboratoire permettant de traiter des séries importantes ; au minimum 90 tests par série de 2 h 30 à 4 h par automate. Le résultat est rendu en 24h.

Elle présente cependant de nombreuses limitations ; nécessite un personnel qualifié, disposer de réactif en quantité suffisante, le coût est élevé et un long délai d'attente des résultats est nécessaire.

La capacité à répondre à la demande de détection de virus a vite été dépassée, et le développement de tests utilisant des méthodes chimiques alternatives a été mis en place, afin de répondre aux besoins de santé publique.

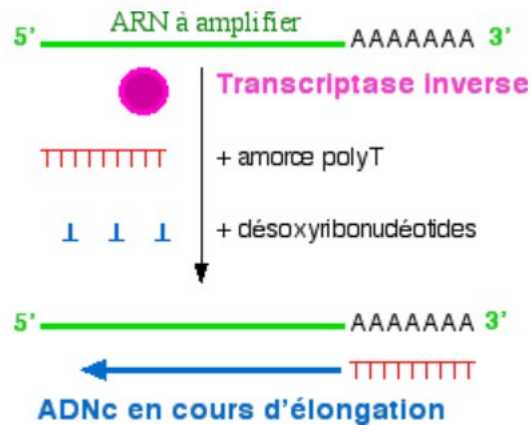


Figure 8 : Schéma simplifié du principe de reverse transcription (30)

1.1.2 Caractéristiques de la RT PCR

1.1.2.1 Délai et fenêtre de détection

Le test PCR permet de détecter une infection à partir de 2 à 3 jours avant le début des symptômes, et jusqu'à 7 à 10 jours après. Un portage prolongé de l'ARN viral est possible après la phase de guérison, allant jusqu'à plusieurs semaines.

1.1.2.2 Sensibilité et spécificité

La sensibilité et la spécificité expriment la capacité informative du test, c'est-à-dire la capacité du test à catégoriser les patients. Elles s'expriment en probabilité et par un pourcentage sur un échantillon. De ce fait, elles doivent s'accompagner d'un intervalle de confiance classiquement estimé à 95%.

Pour une pathologie donnée, on peut observer des variations de sensibilité ou de spécificité en fonction du type de population, dans laquelle elles sont mesurées. Plus l'échantillon

contient des formes graves de la maladie, plus la sensibilité sera élevée et la spécificité basse. Ces variations ne sont pas à proprement parler des biais, car elles ne sont pas secondaires à une erreur méthodologique, mais à une variation des caractéristiques de la population.

La sensibilité est déterminée sur une population de patients, dont le statut malade est connu grâce au test de référence. C'est la probabilité (p) du résultat positif du test (T+) chez les sujets porteurs de la maladie (M+), telle qu'elle est définie par le gold standard appelé également taux de vrais positifs.

La spécificité est déterminée sur une population de patients, dont le statut non malade est connu. C'est la probabilité du résultat négatif de test (T-) chez les patients définis comme non malades (M-), appelée également taux de vrais négatifs.

Le test du SARS-CoV2 est positif dès lors que, l'ARN viral est présent dans le prélèvement nasopharyngé. La sensibilité et la spécificité sont autour de 100% (30).

Un prélèvement inadéquat peut cependant influencer la qualité du résultat.

1.2 La LAMP PCR

Elle est utilisée depuis plusieurs années pour la détection d'agents pathogènes y compris les virus à ARN comme le VRS (31), et a largement été utilisée dans l'industrie vétérinaire et végétale. (32) La rapidité de l'obtention du résultat en moins d'une heure, en fait une technique de choix pour répondre à une forte demande de tests rapides et sensibles.

1.2.1 Technique biochimique

La LAMP PCR est une technique d'amplification isotherme, à médiation par la boucle de transcription inverse. Elle permet de détecter des quantités infimes de matrices d'ADN ou d'ARN.

Elle présente une sensibilité et une spécificité accrue en raison d'une fonction d'amplification exponentielle, qui utilise 6 séquences cibles différentes, identifiées simultanément par des amorces distinctes dans la même réaction. Une ADN polymérase à déplacement de brin est utilisée pour initier la synthèse, tandis que deux amorces forment des structures en boucle pour faciliter et accélérer les cycles d'amplification suivants. La LAMP utilise deux amorces internes et deux amorces externes, et deux amorces en boucle sont utilisées pour accélérer l'amplification et la détection. Ces réactions aboutissent à la formation d'un produit avec une structure en forme d'haltère, comme représentée sur la Figure 9, qui est essentielle pour que la LAMP établisse une amplification isotherme. Elle permet d'éliminer l'étape de dénaturation, qui est essentielle en PCR pour obtenir de l'ADN simple brin.

La boucle test identifie le gène N du SARS-CoV2. Elle est tolérante aux mésappariements et possède une chimie plus résistante aux inhibiteurs que la RT-PCR, ce qui permet de supprimer les procédures d'extraction.

Il est à noter qu'une telle méthode empêche l'inclusion d'un contrôle interne d'inhibition de la PCR, ce qui nécessite la duplication des réactions lors des tests.

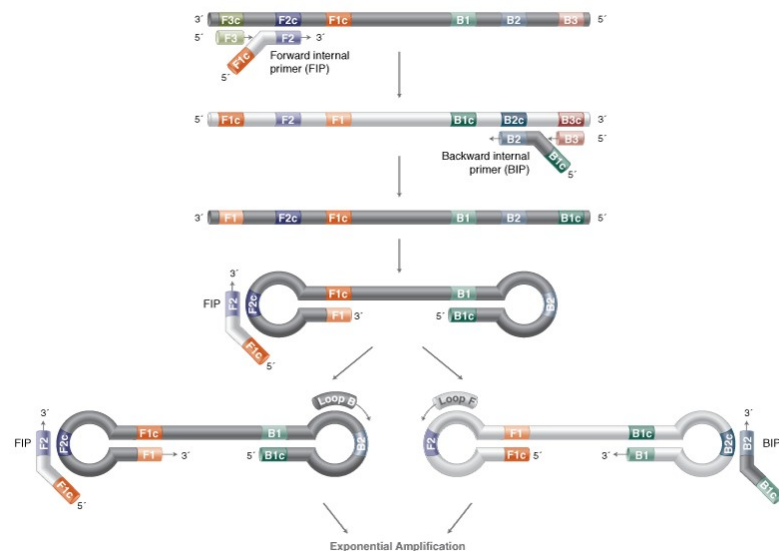


Figure 9 : Technique LAMP PCR (34)

1.2.2 Caractéristiques de la LAMP PCR

1.2.2.1 Délai et fenêtre de détection

Le test LAMP PCR possède un délai et une fenêtre de détection similaire à celles de la RT PCR.

1.2.2.2 Sensibilité et spécificité

Plusieurs études (33) (34) objectivent l'utilisation de la LAMP PCR, comparable en termes de spécificité et de sensibilité à la RT-PCR conventionnelle comme outil de dépistage du SARS CoV2. Elles ont démontré, que 1 à 10 copies de la matrice de l'ARN viral par réaction est suffisante pour une détection réussie, ce qui est environ 100 fois plus sensible que les méthodes conventionnelles par RT PCR. (35)

Cette technique, moins chère, permet un délai d'obtention de résultat plus rapide. Le résultat peut être observé à l'œil nu, lorsqu'elle est réalisée en présence d'un colorant fluorescent.

1.2.2.3 Technique utilisée dans l'étude

Nous avons utilisé comme POC le modèle de machine intitulé ID now. Il s'agit d'une PCR fermée, automatisée, basée sur les acides nucléiques et détectant le SARS-CoV2. La PCR multiplex rapide ID now fournit un test hautement sensible, et précis pour la détection rapide du SARS-CoV2.

2: MATERIELS ET METHODES

2.1 Type et objectif de l'étude

Nous avons réalisé une étude de cohorte monocentrique rétrospective au sein du Service d'accueil des urgences de l'Hôpital Lariboisière, situé dans le 10^{ème} arrondissement de Paris.

L'étude se déroule en deux périodes distinctes, respectivement durant la première et la deuxième vague épidémique en France. La première période se déroule du 1^{er} mars 2020 au 31 mai 2020. La seconde se déroule du 1^{er} octobre 2020 au 31 décembre 2020.

Durant la première période, le test RT-PCR sur écouvillon nasopharyngé était la référence pour le diagnostic de COVID-19. Cette analyse a été réalisée au laboratoire central hospitalier (test SARS-CoV2 Cobas, Roche France).

Au cours de la deuxième période, un dispositif de PCR délocalisé a été implémenté aux urgences, ABOTT ID-NOW COVID-19 et utilisé en routine.

2.2 Sélection et description des participants

Notre étude est construite sur la base d'une cohorte de patients ayant été détectés positifs à la maladie SARS-CoV2, au cours de leur prise en charge sur les deux périodes d'inclusion, dans le service d'accueil des urgences de l'hôpital Lariboisière à Paris 10ème.

2.2.1 Critères d'inclusion

L'ensemble des dossiers patients inclus dans notre étude, ont été extraits par codage informatique correspondant à une infection SARS-CoV2.

Les patients de plus de 16 ans, admis aux urgences, ont été inclus si :

- Ils ont un test positif au coronavirus réalisé après l'admission aux urgences.

- Le résultat du diagnostic moléculaire était horodaté dans le logiciel de recueil de données.

2.2.2 Critères non inclusion

Les patients ayant eu une RT-PCR aux urgences pour une admission dans des services non liés à la suspicion de COVID-19, afin de se conformer à la politique de l'hôpital, n'ont pas été inclus.

De même pour les patients se présentant aux urgences avec une précédente RT-PCR positive réalisée avant l'admission.

2.3 Critères de jugement

Le critère de jugement principal est le temps médian, exprimé en heure, de prise en charge totale aux urgences.

Les critères de jugement secondaires sont le temps total entre l'arrivée aux urgences et le résultat positif du SARS-CoV2 inscrit dans le dossier médical, le temps de prise en charge médicale total, le temps de prescription médicale du test PCR, le temps de validation de la prescription médicale et le temps d'orientation médicale.

2.4 Informations techniques

2.4.1 Recueil de données

La collecte des données cliniques a été effectuée par deux médecins urgentistes de façon indépendante, qui ont eu accès à l'intégralité du dossier médical des patients.

Les données ont été extraites manuellement du dossier médical électronique, ont été saisies dans un CFR électronique (REDCap AP/HP). Chaque action est horodatée dans le dossier médical. Les données démographiques regroupaient les trois premières lettres du prénom et

du nom, l'âge ainsi que la date de naissance. Les différents temps de prise en charge ; arrivée aux urgences, début de prise en charge médicale, prescription médicale du test PCR, validation de la réalisation de la prescription médicale, fin de prise en charge médicale, orientation décisionnelle, ont été recueillis.

Les données manquantes non horodatées, ont été qualifiées d'inconnues.

2.4.2 Analyses statistiques

Les caractéristiques des patients ont été décrites dans chaque groupe en pourcentage pour la variable qualitative, et par médiane et intervalle interquartile pour la variable continue.

Les données relatives aux principaux résultats ont été comparées à l'aide d'un test du chi deux ou du test de Fisher pour les variables qualitatives, et des tests de Mann-Whitney ou de Kruskal-Wallis pour les variables continues. Nous avons considéré qu'une différence était significative à un niveau de 5% ou plus (risque alpha).

Les analyses statistiques ont été réalisées avec IBM SPSS 23.

Selon la loi française, il n'était pas nécessaire de soumettre le protocole à un comité d'éthique. La commission de l'informatique et des libertés a été informée de la collecte des données.

3: RESULTATS

Au cours de ces deux périodes, le nombre total de prélèvements nasopharyngé par RT PCR réalisé aux urgences de Lariboisière sur la première période, était de 2343 échantillons. Nous avons réalisé 1723 échantillons de LAMP PCR sur la deuxième période.

Parmi ces échantillons, nous avons retenu ceux dont le résultat est revenu positif, soit 647 pour la première période et 112 pour la deuxième période.

Nous avons exclu les patients dont le résultat au SARS-CoV2 est revenu positif, si les données de début et de fin de prise en charge médicale n'étaient pas mentionnées dans le dossier médical. Il existe donc 16 données manquantes pour la première période et 82 pour la seconde période.

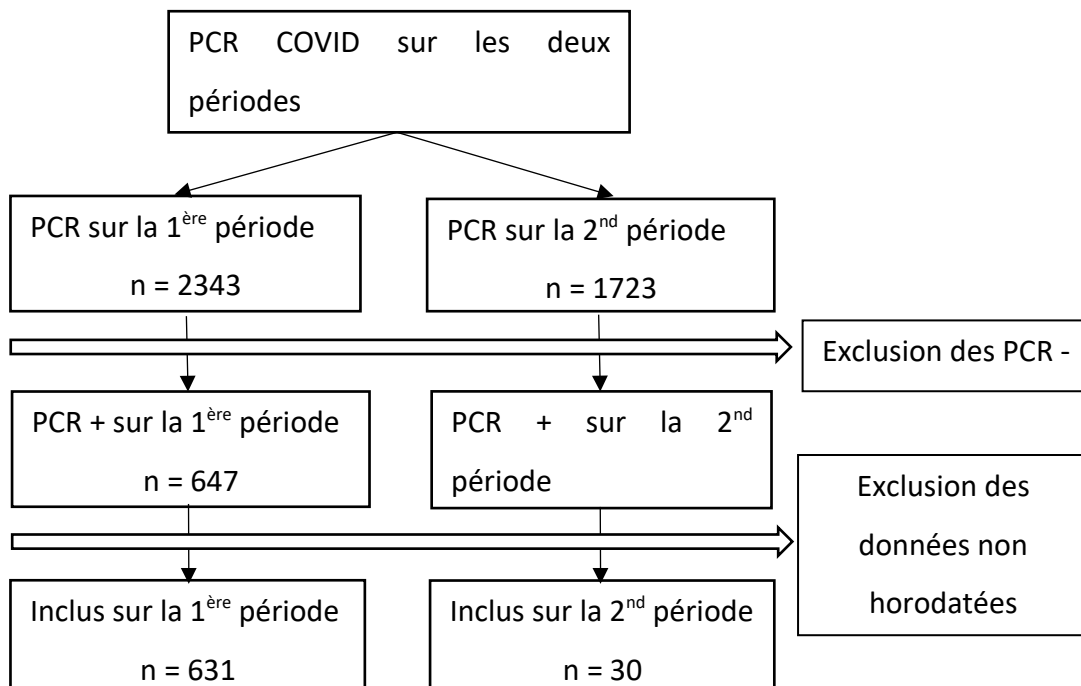


Figure 10 : Flow Chart

L'âge médian des patients était de 65 ans au cours de la première période et de 72,5 ans au cours de la seconde, avec une majorité d'hommes au cours de la première période (65,5%).

Toutes les caractéristiques des patients sont résumées dans le Tableau 1.

	Période 1 (n = 631)	Période 2 (n = 30)	p-value
Age médian [percentile]	65 [52 : 78]	72,5 [55,7 : 85,5]	//
Sexe (%)			p = 0,081
- Homme	413 (65,5)	15 (50)	
- Femme	217 (34,4)	15 (50)	
Non admission (%)	104 (16,5)	1 (3,3)	p = 0,064
Hospitalisation (%)	518 (82)	27 (90)	p = 0,065
- UHCD	376 (59,6)	18 (60)	p = 0,684
- Médecine adulte polyvalente	84 (13,3)	2 (6,7)	p = 0,565
- Réanimation	53 (8,4)	4 (13,3)	p = 0,297
- Chirurgie	5 (0,8)	3 (10,0)	//
- Psychiatrie	0	0	//
Donnée manquante (%)	9 (1,5)	2 (6,7)	//
Lieux d'envoi des écouvillons (%)			p < 0,01
- Laboratoire (interne et externe)	631 (100)	1 (3,3)	
- POC aux urgences	//	29(96,7)	//

Tableau 1 : Caractéristiques des patients étudiés, avec (n) le pourcentage correspondant.

L'orientation des patients à partir du service d'accueil des urgences était similaire dans les deux groupes. L'admission en réanimation et le retour à domicile sont similaires dans les deux groupes. Dans la première période, 104 (16,5%) sont sortis directement du service d'urgence, et 1 dans la seconde période (3,3%) (p=0,068). Parmi les 518 (82%) patients hospitalisés, 53 (8,4%) ont été admis en réanimation en période 1 versus 4 patients (13,3%) en période 2 (p=0,297).

Les caractéristiques du résultats PCR, présentés dans le Tableau 2.

	Période 1	Période 2	p value
Type de rendu (%) Ticket LAMP Informatique	629 (99,6) 2 (0,4)	30 (100) //	p = 0,095 //
Résultat PCR noté dans le dossier (%) Oui Non	208 (33) 423 (67)	30 (100) 0	p < 0,01
Résultat PCR horodaté (%) Oui Non Donnée manquante	208 (33) 418 (66) 5 (0,8)	29 (96,7) 1 (3,3) 0	p < 0,01

Tableau 2 : Caractéristiques du résultat PCR, avec (n) le pourcentage correspondant.

	Période 1	Période 2	p value
Retour à domicile	36 (9,6)	3 (16,7)	//
Hospitalisation médecine conventionnelle	309 (82)	14 (77,8)	p = 0,7
Soins intensifs	5 (1,3)	0	//
Chirurgie	5 (1,3)	0	//
Données manquantes	21 (5,6)	1 (5,6)	//

Tableau 3 : Type d'orientation médicale à partir du service d'hospitalisation d'UHCD, avec (n) le pourcentage correspondant.

Le Tableau 4 objective l'absence de différence statistiquement significative sur le critère de jugement principal (temps médian exprimé en heure de temps total de prise en charge au service d'accueil des urgences). Il n'existe donc pas de différence dans notre étude sur la durée de prise en charge médicale totale aux urgences entre les deux périodes étudiées.

Concernant les critères de jugement secondaire, il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les deux méthodes de biologie moléculaire utilisées sur trois critères de

jugement secondaire. Nous ne pouvons pas conclure sur le temps de caractérisation d'un patient infecté par le coronavirus testé aux urgences, faute de données manquantes lors de la seconde période de l'étude.

	Première période	Seconde période	p-value
Temps de prise en charge (h)			
SAU Total	17,47 [7,8 : 26,23]	21,01 [16,08 : 27,47]	p = 0,124
Médicale totale	16,33 [7 : 25,4]	19,98 [12,53 : 26,45]	p = 0,177
De la prescription médicale du test COVID	0,35 [0,067 : 0,63]	0,13 [0,017 : 1,61]	p = 0,643
De validation de la prescription médicale	1,45 [0,82 : 2,28]	1,1 [0,62 : 3,85]	p = 0,267
Temps de caractérisation COVID (h)			
Depuis l'arrivée aux urgences	9,06 [3,85 ; 9,06]	//	//
Depuis le premier contact médical	7,37 [3,2 ; 13]	//	//

Tableau 4 : Critères de jugement principal et secondaire selon la période épidémique. Les résultats sont exprimés en médiane avec pour unité l'heure.

4: DISCUSSION

Les vagues épidémiques de COVID-19 ont entraîné un flux important de patients dans les services d'accueil des urgences, avec une augmentation du nombre de consultations médicales et l'absence de lit d'aval disponibles en quantité suffisante. L'identification rapide et précise du SARS-CoV2 est essentielle pour assurer un triage et une prise en charge rapide et appropriée des patients atteints du COVID-19.

Cette étude nous permet de constater, qu'il n'existe pas de différence statistiquement significative entre l'utilisation d'une PCR SARS-CoV2 et celle d'un POC aux urgences, pour la durée de prise en charge totale aux urgences.

Notre étude comporte plusieurs limites. Il s'agit d'une étude rétrospective qui comporte donc des données manquantes. Les patients ont été inclus à partir d'un codage patient avec un biais d'inclusion. Le nombre de patients exclus de l'étude est significativement différent entre les deux périodes (16 pour P1 et 82 pour P2), pouvant être expliqué par des circuits de prise en charge patient différents entre la première et la seconde période. Il existerait ainsi un manque de puissance de l'étude. Par ailleurs, parmi les 30 résultats de LAMP PCR réalisés inclus dans l'étude, deux correspondent à des résultats du personnel travaillant au sein des urgences, ayant réalisé un test rapide à finalité de dépistage individuel. Il n'existe pas assez de données horodatées sur la deuxième période, pour conclure sur une prise en charge plus courte aux urgences de Lariboisière.

Il est à considérer que la biologie délocalisée peut conclure à des faux positifs ou des faux négatifs, comme pour les biomarqueurs classiques. Elle permet de répondre à des besoins

cliniques au délai court. Le volume d'échantillon prélevé est réduit et peut être insuffisant pour l'analyse.

Il existe donc plusieurs limites propres à la biologie délocalisée. La médecine basée sur les preuves n'est pas formelle, quant à l'intérêt de la biologie délocalisée. Plusieurs études ont démontré des résultats satisfaisants, cependant les données de la littérature ne sont pas toutes concordantes. Par ailleurs, le coût des tests de biologies délocalisée est compris en moyenne entre 2 et 25 euros. Les machines utilisées, les réactifs, ainsi que la maintenance sont onéreux. Le coût peut être un frein majeur à l'utilisation de ces techniques, dans la mesure où ils sont développés et utilisés dans un enjeu de santé publique, donc en grande quantité.

Le prélèvement de biologie moléculaire doit être acheminé directement pour analyse. La personne responsable de la réalisation du test, peut être occupée à réaliser une autre tâche. Le temps écoulé est alors suffisant pour rendre l'échantillon prélevé inutilisable.

De plus, quelle que soit la méthode utilisée dans notre étude, le biais de sélection constitué par la méthode de prélèvement est certain. Le prélèvement doit idéalement être réalisé par une personne formée. Le prélèvement nasopharyngé, dont le caractère invasif limite l'acceptabilité et donc la coopération des patients, est source de faux négatif. Une formation supplémentaire sur la maintenance de l'appareil de lecture de la LAMP PCR est requise.

Nous pouvons ainsi nous interroger sur la réalisation de la même étude incluant un plus grand nombre de patients, avec pour objectif d'atteindre une puissance suffisante permettant de s'affranchir des multiples biais cités ci-dessus.

CONCLUSION

La biologie délocalisée est définie par la Société française de Biologie clinique comme « l'ensemble des analyses réalisées par des médecins non biologistes ou du personnel non médical en dehors des locaux dédiés spécifiquement à la biologie médicale dans un établissement de soins ». Les examens de biologie délocalisée sont soumis aux mêmes réglementations que les examens effectués en laboratoire de biologie médicale, avec une phase analytique réalisée hors du laboratoire.

Les multiples tests de biologie délocalisés ont un succès qui repose sur leur facilité d'utilisation, leur portabilité et une bonne sensibilité. Cela est rendu possible par des nouvelles technologies constituées de nanomatériaux et de microfluidique-papier permettant d'améliorer la sensibilité du test. Les nanomatériaux permettent d'améliorer les propriétés optiques, chimiques et électriques. La microfluidique-papier permet, à faible coût, une détection colorimétrique ou électrochimique.

La biologie délocalisée est une méthode utilisée en hospitalier mais également en extrahospitalier. Les avantages à l'utilisation extra hospitalière sont d'une part une aide au diagnostic, mais plus spécifiquement une aide à l'orientation du patient vers la structure la plus adaptée. L'étude USIK 2000 (36) a démontré une diminution de la mortalité des patients présentant un syndrome coronarien aigu (SCA) sans élévation du segment ST, étant transportés directement en service de cardiologie interventionnelle (5,1%) après la réalisation d'une troponine délocalisée, par rapport à ceux transportés aux urgences (9,4%) sans réalisation de biologie délocalisée. La cardiologie représente environ 40% de l'activité SAMU-SMUR. Les recommandations européennes de 2007 sur la prise en charge des

syndromes coronariens aigus sans élévation du segment ST préconisent un dosage de la troponine en biologie délocalisée, dès que le délai d'obtention du résultat au laboratoire est supérieur à une heure. Plusieurs autres solutions de biologie délocalisée permettent un dosage des enzymes cardiaques (D-dimère, BNP). Dans une étude réalisée aux USA par *Gayette et al (37)* sur les transports hélicoptérés des patients traumatisés, nous retrouvons une corrélation entre le taux de lactate réalisé en biologie délocalisée et la mortalité. Il faut néanmoins savoir qu'un dosage trop précoce peut être à l'origine de faux négatifs. Il s'agit donc de bien connaître la cinétique des biomarqueurs. Ainsi, nous pouvons citer de multiples autres tests délocalisés, comme les gazs du sang avec lactate, le ionogramme sanguin, utilisables en routine en contexte pré-hospitalier.

En contexte hospitalier, l'utilisation de biologie délocalisée est courante. Elle permet d'obtenir, par exemple, en pédiatrie, un résultat de marqueur inflammatoire (CRP) ou l'identification d'une angine bactérienne (Streptotest). En traumatologie, le statut vaccinal tétanique (SAT-VAT) peut être déterminé. Les paramètres vitaux comme la glycémie capillaire (Dextro) ou l'hémoglobine (Hémocue) peuvent être connus rapidement.

Notre étude s'inscrit donc dans une modernisation et une évolution de la médecine qui tend à utiliser au quotidien des moyens de biologie délocalisée. Etant donnée la sensibilité et la spécificité déjà étudiées et démontrées des techniques PCR délocalisées dans la détection des virus respiratoires, elles pourraient tendre à devenir la nouvelle méthode de référence et s'inscrire en premier temps comme technique de choix de dépistage d'un patient porteur du virus recherché.

Bibliographie

1. Vabret A, Dina J, Brison E, Brouard J, Freymuth F. Coronavirus humains (HCoV). *Pathol Biol.* mars 2009;57(2):149-60.
2. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet.* févr 2020;395(10224):565-74.
3. Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 12 mars 2020;579(7798):265-9.
4. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 12 mars 2020;579(7798):270-3.
5. Tang X, Wu C, Li X, Song Y, Yao X, Wu X, et al. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *Natl Sci Rev.* 1 juin 2020;7(6):1012-23.
6. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Pöhlmann S. A Multibasic Cleavage Site in the Spike Protein of SARS-CoV-2 Is Essential for Infection of Human Lung Cells. *Mol Cell.* mai 2020;78(4):779-784.e5.
7. Shang J, Wan Y, Luo C, Ye G, Geng Q, Auerbach A, et al. Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc Natl Acad Sci.* 26 mai 2020;117(21):11727-34.
8. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell.* 20 août 2020;182(4):812-827.e19.
9. Chen H, Guo J, Wang C, Luo F, Yu X, Zhang W, et al. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. *The Lancet.* mars 2020;395(10226):809-15.
10. Qiao J. What are the risks of COVID-19 infection in pregnant women? *The Lancet.* mars 2020;395(10226):760-2.
11. Seto W, Tsang D, Yung R, Ching T, Ng T, Ho M, et al. Effectiveness of precautions against droplets and contact in prevention of nosocomial transmission of severe acute respiratory syndrome (SARS). *The Lancet.* mai 2003;361(9368):1519-20.

12. Rabenau HF, Kampf G, Cinatl J, Doerr HW. Efficacy of various disinfectants against SARS coronavirus. *J Hosp Infect.* oct 2005;61(2):107-11.
13. Lescure F-X, Bouadma L, Nguyen D, Parisey M, Wicky P-H, Behillil S, et al. Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. *Lancet Infect Dis.* juin 2020;20(6):697-706.
14. Chow RD, Chen S. The aging transcriptome and cellular landscape of the human lung in relation to SARS-CoV-2 [Internet]. *Genomics*; 2020 avr [cité 1 nov 2021]. Disponible sur: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.04.07.030684>
15. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med.* 1 juill 2020;180(7):934.
16. Zhang B, Zhou X, Qiu Y, Song Y, Feng F, Feng J, et al. Clinical characteristics of 82 cases of death from COVID-19. *Jin X, éditeur. PLOS ONE.* 9 juill 2020;15(7):e0235458.
17. Zhou R, To KK-W, Wong Y-C, Liu L, Zhou B, Li X, et al. Acute SARS-CoV-2 Infection Impairs Dendritic Cell and T Cell Responses. *Immunity.* oct 2020;53(4):864-877.e5.
18. Liao M, Liu Y, Yuan J, Wen Y, Xu G, Zhao J, et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. *Nat Med.* juin 2020;26(6):842-4.
19. Kin N, Vabret A. Les infections à coronavirus humains. *Rev Francoph Lab.* déc 2016;2016(487):25-33.
20. Herrewegh AA, Smeenk I, Horzinek MC, Rottier PJ, de Groot RJ. Feline coronavirus type II strains 79-1683 and 79-1146 originate from a double recombination between feline coronavirus type I and canine coronavirus. *J Virol.* mai 1998;72(5):4508-14.
21. Vijgen L, Keyaerts E, Lemey P, Maes P, Van Reeth K, Nauwynck H, et al. Evolutionary History of the Closely Related Group 2 Coronaviruses: Porcine Hemagglutinating Encephalomyelitis Virus, Bovine Coronavirus, and Human Coronavirus OC43. *J Virol.* 15 juill 2006;80(14):7270-4.
22. Vijgen L, Keyaerts E, Lemey P, Moës E, Li S, Vandamme A-M, et al. Circulation of genetically distinct contemporary human coronavirus OC43 strains. *Virology.* juin 2005;337(1):85-92.
23. Vijgen L, Keyaerts E, Moës E, Thoelen I, Wollants E, Lemey P, et al. Complete Genomic Sequence of Human Coronavirus OC43: Molecular Clock Analysis Suggests a Relatively Recent Zoonotic Coronavirus Transmission Event. *J Virol.* févr 2005;79(3):1595-604.

24. Lau SKP, Woo PCY, Li KSM, Huang Y, Tsoi H-W, Wong BHL, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 27 sept 2005;102(39):14040-5.
25. Li W, Shi Z, Yu M, Ren W, Smith C, Epstein JH, et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*. 28 oct 2005;310(5748):676-9.
26. Feng W, Newbigging AM, Le C, Pang B, Peng H, Cao Y, et al. Molecular Diagnosis of COVID-19: Challenges and Research Needs. *Anal Chem*. 4 août 2020;92(15):10196-209.
27. Su YCF, Anderson DE, Young BE, Linster M, Zhu F, Jayakumar J, et al. Discovery and Genomic Characterization of a 382-Nucleotide Deletion in ORF7b and ORF8 during the Early Evolution of SARS-CoV-2. Schultz-Cherry S, éditeur. *mBio* [Internet]. 25 août 2020 [cité 11 nov 2021];11(4). Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.01610-20>
28. Zinzula L. Lost in deletion: The enigmatic ORF8 protein of SARS-CoV-2. *Biochem Biophys Res Commun*. janv 2021;538:116-24.
29. Lo YMD, Chiu RWK. Racing Towards the Development of Diagnostics for a Novel Coronavirus (2019-nCoV). *Clin Chem*. 1 avr 2020;66(4):503-4.
30. Wan Z, Zhang Y, He Z, Liu J, Lan K, Hu Y, et al. A Melting Curve-Based Multiplex RT-qPCR Assay for Simultaneous Detection of Four Human Coronaviruses. *Int J Mol Sci*. 23 nov 2016;17(11):1880.
31. Ushio M, Yui I, Yoshida N, Fujino M, Yonekawa T, Ota Y, et al. Detection of respiratory syncytial virus genome by subgroups-A, B specific reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *J Med Virol*. sept 2005;77(1):121-7.
32. Waters RA, Fowler VL, Armson B, Nelson N, Gloster J, Paton DJ, et al. Preliminary Validation of Direct Detection of Foot-And-Mouth Disease Virus within Clinical Samples Using Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Coupled with a Simple Lateral Flow Device for Detection. Menéndez-Arias L, éditeur. *PLoS ONE*. 28 août 2014;9(8):e105630.
33. Fowler VL, Armson B, Gonzales JL, Wise EL, Howson ELA, Vincent-Mistiaen Z, et al. A highly effective reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the rapid detection of SARS-CoV-2 infection. *J Infect*. janv 2021;82(1):117-25.
34. Hu Y, Wan Z, Mu Y, Zhou Y, Liu J, Lan K, et al. A quite sensitive fluorescent loop-mediated isothermal amplification for rapid detection of respiratory syncytial virus. *J Infect Dev Ctries*. 31 déc 2019;13(12):1135-41.

35. Shirato K, Yano T, Senba S, Akachi S, Kobayashi T, Nishinaka T, et al. Detection of Middle East respiratory syndrome coronavirus using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *Virology*. déc 2014;11(1):139.
36. Danchin N, Hanania G, Grenier O, Vaur L, Amelineau E, Guéret P, et al. Évolution du traitement de sortie après hospitalisation pour syndrome coronaire aigu en France entre 1995 et 2000 : données des études Usik 1995, Prévenir 1 et 2 et Usic 2000. *Ann Cardiol Angéiologie*. janv 2003;52(1):1-6.
37. Guyette F., Suffoletto B., Castillo J.L., Quintero J., Callaway C., Puyana J.C. Prehospital serum lactate as a predictor of outcomes in trauma patients : a retrospective observational study. *J Trauma*, 2011 Apr ; 70(4) : 782-6.

Table des figures

Figure 1 : Arbre Phylogénétique des coronavirus.....	13
Figure 2 : Représentation microbiologique d'un coronavirus.....	15
Figure 3 : Représentation schématique d'un génome de Betacoronavirus de clade A.....	16
Figure 4 : Cycle de multiplication d'un coronavirus.....	18
Figure 5 : Récepteurs cellulaires identifiés et acides aminés composant le site de liaison au récepteur cellulaire sur la protéine S pour les différents coronavirus humains (HCoV) et coronavirus émergents.....	19
Figure 6 : Génome du SARS-CoV2.....	29
Figure 7 : Mutation du gène ORF8 du SARS-CoV2.....	30
Figure 8 : Schéma simplifié du principe de reverse transcription.....	33
Figure 9 : Technique LAMP PCR.....	35
Figure 10 : Flow chart de l'étude.....	40

Table des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des patients étudiés.....	41
Tableau 2 : Caractéristiques du résultat PCR.....	42
Tableau 3 : Type d'orientation médicale à partir du service d'accueil des urgences.....	43
Tableau 4 : Type d'orientation médicale à partir du secteur d'hospitalisation UHCD.....	43
Tableau 5 : Critères de jugement principal et secondaire selon la période épidémique.....	45

PERMIS D'IMPRIMER

VU :

VU :

Le Président de thèse

Université *de Paris*

Le Professeur *Patrick PLAISANCE*

Le Doyen de l'UFR de Médecine

(Université de Paris, Paris-Nord)

Professeur Philippe RUSZNIEWSKI

Tampon du service :

Pr. Patrick PLAISANCE

Chef de Service

SERVICE DES URGENCES

Hôpital LARIBOISIÈRE

75475 PARIS CEDEX 10

Tél. 01 49 95 63 91

Fax 01 49 95 85 45

Date : *22.02.2022* N° Finess : 75010042



VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Pour la Présidente de l'Université de Paris
et par délégation

Le Doyen de l'UFR de Médecine

(Université de Paris, Paris-Nord)

Philippe RUSZNIEWSKI

Résumé

Titre: Impact de la caractérisation des patients positifs au SARS-COV2 par LAMP-PCR délocalisée sur la gestion des flux aux urgences.

Introduction: La pandémie SARS-CoV2 a démontré la nécessité de développer des méthodes de biologie moléculaire, permettant une détection rapide et efficace du virus. Plus particulièrement dans les services d'urgences, l'identification précoce des patients porteurs du SARS-CoV2, ayant souvent des manifestations cliniques difficiles à distinguer des autres infections respiratoires, permet un isolement et une inclusion dans une filière de soins spécifique. Cette étude évalue l'utilisation d'une technique de PCR délocalisées aux urgences pour l'identification des patients COVID positifs et son impact sur la rapidité de l'orientation des patients.

Méthode: Étude de cohorte rétrospective monocentrique au sein du service d'accueil des Urgences de l'hôpital Lariboisière. L'étude se déroule sur 2 périodes, durant la première et la seconde vague épidémique en France. La méthode utilisée durant la première période du 1er mars au 1er mai 2020 est la méthode de référence, la RT PCR. Durant la seconde période, du 1er octobre 2020 au 1er décembre 2020, la méthode utilisée est la LAMP PCR.

Résultats: Les résultats ont démontré une différence non significative, concernant le temps de prise en charge totale aux urgences, exprimé en heures, entre la première (17,47 [7,8 : 26,23]) et la deuxième période (21,01 [16,08 : 27,47]) ($p=0,124$). De même, le temps de prise en charge médical total entre les deux périodes, n'est pas significatif avec une médiane à 16,33 [7 : 25,4] heures pour la première période et à 19,98 [12,53 : 26,45] heures pour la seconde ($p=0,177$).

Conclusion: Nous ne retrouvons pas de différence statistiquement significative, entre l'utilisation des deux méthodes de biologie moléculaire, pour la durée de prise en charge des patients positifs au SARS-CoV2.

Spécialité : diplôme d'études spécialisées en médecine d'urgence

Mots clés : SARS-CoV-2, COVID-19, RT-LAMP Rapid diagnostics, testing Direct RNA detection, Reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification, Polymerase chain reaction, emergency department, molecular diagnosis.

Université de Paris
UFR de médecine– Site Bichat
16, rue Henri Huchard 75018 Paris