



HAL
open science

Séroprévalence du Sars-Cov-2 chez le chat et le chien en France : épidémiologie descriptive et facteurs de risques

Matéo Battini

► **To cite this version:**

Matéo Battini. Séroprévalence du Sars-Cov-2 chez le chat et le chien en France : épidémiologie descriptive et facteurs de risques. Médecine vétérinaire et santé animale. 2022. dumas-03957537

HAL Id: dumas-03957537

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03957537v1>

Submitted on 26 Jan 2023

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.

SEROPREVALENCE DU SARS-COV-2 CHEZ LE CHAT ET LE CHIEN EN FRANCE : EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE ET FACTEURS DE RISQUES

THESE D'EXERCICE

pour obtenir le titre de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

BATTINI Matéo

Directeur de thèse : M. Jean-Luc GUERIN

JURY

PRESIDENT :

M. Jacques IZOPET

Professeur à l'Université Paul Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURS :

M. Jean-Luc GUERIN

Mme Séverine BOULLIER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Professeure à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

M. Pierre BESSIÈRE

Docteur vétérinaire à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

**Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation
ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Liste des directeurs/assesseurs de thèse de doctorat vétérinaire

Directeur : Professeur Pierre SANS

**PROFESSEURS CLASSE
EXCEPTIONNELLE**

- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Pharmacologie, thérapeutique*
- M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et industrie des aliments d'origine animale*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, statistiques, modélisation*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la reproduction, endocrinologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la reproduction*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Biologie médicale animale et comparée*

**PROFESSEURS 1^{ère}
CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et industrie des aliments*
- Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, anatomie pathologique*
- Mme **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie vétérinaire*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **GUERIN Jean-Luc**, *Aviculture et pathologie aviaire*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- Mme **LACROUX Caroline**, *Anatomie pathologique, animaux d'élevage*
- Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et thérapeutique*
- M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des ruminants*

PROFESSEURS 2^{ème} CLASSE

- Mme **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores*
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
Mme **MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation animale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, imagerie médicale*
Mme **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles*
M. **RABOISSON Didier**, *Médecine de population et économie de la santé animale*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la reproduction*
Mme **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et industrie des denrées alimentaires d'origine animale*
Mme **CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et toxicologie*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et infectiologie*

MAITRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE
--

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BRET Lydie**, *Physique et chimie biologiques et médicales*
Mme **BOUHSIRA Emilie**, *Parasitologie, maladies parasitaires*
M. **CARTIAUX Benjamin**, *Anatomie, imagerie médicale*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
Mme **DANIELS Hélène**, *Immunologie, bactériologie, pathologie infectieuse*
Mme **DAVID Laure**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DIDIMO IMAZAKI Pedro**, *Hygiène et industrie des aliments*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie vétérinaire et comparée*
Mme **FERRAN Aude**, *Physiologie*
Mme **GRANAT Fanny**, *Biologie médicale animale*
Mme **JOURDAN Géraldine**, *Anesthésie, analgésie*
M. **JOUSSERAND Nicolas**, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **LALLEMAND Elodie**, *Chirurgie des équidés*
Mme **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
M. **LE LOC'H Guillaume**, *Médecine zoologique et santé de la faune sauvage*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MILA Hanna**, *Elevage des carnivores domestiques*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*

M. **VERGNE** *Timothée*, *Santé publique vétérinaire, maladies animales réglementées*
Mme **WASET-SZKUTA** *Agnès*, *Production et pathologie porcine*

INGENIEURS DE RECHERCHE

M. **AUMANN** *Marcel*, *Urgences, soins intensifs*
M. **AUVRAY** *Frédéric*, *Santé digestive, pathogénie et commensalisme des entérobactéries*
M. **CASSARD** *Hervé*, *Pathologie des ruminants*
M. **CROVILLE** *Guillaume*, *Virologie et génomique cliniques*
Mme **DEBREUQUE** *Maud*, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **DIDIER** *Caroline*, *Anesthésie, analgésie*
Mme **DUPOUY GUIRAUTE** *Véronique*, *Innovations thérapeutiques et résistances*
Mme **GAILLARD** *Elodie*, *Urgences, soins intensifs*
Mme **GEFFRE** *Anne*, *Biologie médicale animale et comparée*
Mme **GRISEZ** *Christelle*, *Parasitologie et maladies parasitaires*
Mme **JEUNESSE** *Elisabeth*, *Bonnes pratiques de laboratoire*
Mme **PRESSANTI** *Charline*, *Dermatologie vétérinaire*
M. **RAMON PORTUGAL** *Félipe*, *Innovations thérapeutiques et résistances*
M. **REYNOLDS** *Brice*, *Médecine interne des animaux de compagnie*
Mme **ROUCH BUCK** *Pétra*, *Médecine préventive*
M. **DELPONT** *Mattias*, *Clinique Aviaire*
Mme **POUJADE** *Agnès*, *Anatomie pathologique Vétérinaire*
Mme **LAYSSOL-LAMOUR** *Catherine*, *Imagerie Médicale*

Remerciements

A Monsieur le Professeur Jacques Izopet

Professeur des Universités
Université Paul Sabatier de Toulouse
Praticien Hospitalier
Centre Hospitalier Universitaire de Toulouse
Directeur du laboratoire de Virologie
Hôpital de Purpan
Virologie
Qui nous fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse.
Nos hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Jean-Luc Guerin

Directeur de l'Unité Mixte de Recherche Interactions Hôtes – Agents Pathogènes
Professeur en Aviculture et pathologie aviaire
École Nationale Vétérinaire de Toulouse
Virologie
Qui nous fait l'honneur de diriger cette thèse et pour la confiance démontrée à
chaque instant.
Sincères remerciements.

A Madame le Professeur Séverine Boullier

Enseignant chercheur
Praticien Hospitalier
École Nationale Vétérinaire de Toulouse
Immunologie – Médecine préventive
Qui nous fait l'honneur d'accepter de participer à ce jury de thèse
Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Pierre Bessière

Assistant d'enseignement et de recherche
Praticien Hospitalier
École Nationale Vétérinaire de Toulouse
Infectiologie – Médecine préventive
Qui m'a énormément aidé dans la réalisation de cette thèse
Sincères remerciements.

Table des matières

Liste des abréviations	7
Liste des figures	9
Liste des tableaux	11
Liste des annexes	12
I. Introduction	13
1. Caractéristiques virologiques et épidémiologiques du SARS-CoV-2	13
a. La pandémie causée par le SARS-CoV-2	13
b. Le virus du SARS-CoV-2 et son entrée dans la cellule hôte	14
c. Les coronavirus humains connus et les origines potentielles du SARS-CoV-2	17
i. Les autres coronavirus humains	17
ii. Les hypothèses concernant les origines du SARS-CoV-2	19
2. Le SARS-CoV-2 Chez l'Homme	21
a. La transmission du virus	21
b. Pathogénicité du SARS-CoV-2	22
c. Symptômes et facteurs de risque	24
a. Détection du virus et diagnostic en médecine humaine	26
i. La PCR	26
ii. Les tests sérologiques	31
• Cinétique de la réponse humorale	31
• Le test ELISA	32
• Les tests d'hémagglutination	33
• La séroneutralisation	35
3. Le SARS-CoV-2 chez les animaux	38
a. La sensibilité des espèces	39
b. Les précédentes études du SARS-CoV-2 chez le chien et le chat	41
i. Surveillance virologique du SARS-CoV-2 chez le chat et le chien	41
ii. Surveillance sérologique du SARS-CoV-2 chez le chat et le chien	43
iii. Les informations des différentes publications sur la cinétique des anticorps chez le chat ou le chien	47
iv. La question des signes cliniques liés au SARS-CoV-2 chez les animaux	48
II. Hypothèses et objectifs	50
1. Objectifs	50
2. Hypothèses	50
III. Matériels et méthodes	51
1. Éthique	51
2. Échantillonnage et questionnaire	51
3. Le test d'hémagglutination	52
4. Le test ELISA	52

5.	La séroneutralisation	53
6.	L'analyse statistique	54
IV.	Résultats	55
1.	Le nombre de prélèvements	55
2.	Le résultat des tests sérologiques	56
3.	L'étude statistique	60
V.	Discussion	62
	Bibliographie	66
	Annexes	84

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

COVID-19 : La maladie à coronavirus apparue pour la première fois en 2019

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

GM-CSF : Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor

HA (Test) : Hémagglutination (Test)

HCoV : Coronavirus Humain

IFN : Interféron

IgA : Immunoglobuline A

IgG : Immunoglobuline G

IgM : Immunoglobuline M

IHA : Inhibition d'hémagglutination

MERS-CoV : Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCR : Polymerase Chain Reaction

RT-PCR : Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

RT-qPCR : Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction

SARS-CoV-1 : Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 1

SARS-CoV-2 : Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

SDRA : Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë

TNF- α : Tumor Necrosis Factors α

Liste des figures

Figure 1 : Structure schématisée du SARS-CoV-2, (Gautheret-Dejean 2020)

Figure 2 : Mécanisme d'entrée du SARS-CoV-2, (Gautheret-Dejean 2020), modifié pour faciliter son utilisation

Figure 3 : Mécanisme de multiplication intracellulaire du SARS-CoV-2 (Gautheret-Dejean 2020), modifié pour faciliter son utilisation

Figure 4 : Signes cliniques les plus fréquents des patients infectés par le SARS-CoV-2, (*HEDIYE-BAG, Derya 2021*)

Figure 5 : Principe de la PCR, (Institut Agro Montpellier 2016)

Figure 6 : Principe de la transcription inverse, (ENS Lyon 2001)

Figure 7 : Principe de la PCR Taqman en temps réel, (*Jaton 2007*)

Figure 8 : Principe de la PCR SYBR Green en temps réel, (Poitras, Houde 2003)

Figure 9 : Cinétique de la détection de l'ARN viral ainsi que celles des anticorps anti-SARS-CoV-2 IgM et IgG (*Griscelli, Roussy 2020*)

Figure 10 : Schéma explicatif de l'ELISA indirect, (*travail personnel*)

Figure 11 : Schémas explicatifs du principe du test d'inhibition de l'hémagglutination, (Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Immunization and Respiratory Diseases 2021)

Figure 12 : Principe du test sérologique d'hémagglutination, (Townsend et al. 2020)

Figure 13 : Principe de la séroneutralisation, (Villeneuve 2014)

Figure 14 : Évolution du nombre de chiens et de chats en France entre 2000 et 2020, (*travail personnel*)

Figure 15 : Résultats des scores de susceptibilité au SARS-CoV-2 en fonction des résidus « clés » de l'ACE2, (*Alexander et al. 2020*)

Figure 16 : Cinétique des anticorps révélée par (A) ELISA et par (B) séroneutralisation pour deux chats (*Zhang, Zhang, Huang, et al. 2020*)

Figure 17 : Distribution spatiale des lieux de prélèvement des échantillons (*Bessière et al. 2022*)

Figure 18 : Plaque de lecture du test sérologique ELISA, (Travail personnel)

Figure 19 : Plaque de lecture du test HAT, (Travail personnel)

Figure 20 : Lecture des tests de séroneutralisation, (*Carrat et al. 2020*)

Liste des tableaux

Tableau 1 : Genres, Sous-genres et Espèces des coronavirus humains, (Segondy 2020)

Tableau 2 : Résumé des différentes séroprévalences du SARS-CoV-2 chez le chien et le chat dans différents pays (Travail personnel)

Tableau 3 : Résultats obtenus avec les différents tests sérologiques, (Travail personnel)

Tableau 4 : Informations détaillées sur le statut sérologique des chiens et des chats, ainsi que sur les facteurs de risque dans le ménage, utilisé dans l'analyse statistique univariante, (Bessière et al. 2022)

Tableau 5 : Complément de l'étude univariante afin de rechercher des potentiels facteurs de risques, (Travail personnel)

Liste des annexes

Annexe 1 : Questionnaire permettant de regrouper les informations des propriétaires ainsi que celles des animaux de l'étude

Annexe 2 : Article lié à cette étude, publié en mai 2022 (Bessière et al. 2022)

I. Introduction

1. Caractéristiques virologiques et épidémiologiques du SARS-CoV-2

a. La pandémie causée par le SARS-CoV-2

En décembre 2019, une épidémie de pneumonie d'étiologie inconnue mais d'allure virale émerge dans la ville de Wuhan, dans la province de Hubei en Chine (Li et al. 2020). L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) décrit un nouveau betacoronavirus, appelé 527, le 9 janvier 2020. On parlera alors du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère du Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) qui s'est rapidement propagé dans le monde entier (Peng Zhou et al. 2020). Les premières séquences du génome du SARS-CoV-2 sont disponibles fin décembre 2019, toutes provenant de Wuhan (Peng Zhou et al. 2020; Tang et al. 2020). La diffusion du virus accélère en avril avec un confinement massif sur la surface du globe et des dizaines, puis des centaines, de milliers de cas signalés d'abord en Europe, puis aux Etats-Unis et enfin dans le monde entier (Zhukova et al. 2021). La maladie est alors désignée *Coronavirus disease 2019* (COVID-19). Le COVID-19 met rapidement à mal les systèmes hospitaliers de nombreux pays, ce qui impacte secondairement les échanges commerciaux et touristiques dans le monde entier (Bignon, Garnier 2020). Le 11 mars 2020, l'OMS déclare le COVID-19 comme une pandémie. Aujourd'hui, le nombre de cas dans le monde s'élève à plus de cinq cent quatre-vingt-dix millions pour plus de six millions de décès lié au COVID -19 (World Health Organization 2022a). Ces chiffres importants exposent aux yeux de tous l'importance de continuer les recherches autour de ce virus, afin de mieux le comprendre et de prévenir de futures vagues de contamination importantes.

Au vu de ces nombreuses conséquences, un nombre record d'études s'est rapidement intéressé à ce virus, sa structure et son fonctionnement.

b. Le virus du SARS-CoV-2 et son entrée dans la cellule hôte

Il s'agit d'un virus à ARN, ayant ainsi des capacités évolutives élevées, à l'origine très récente chez l'homme, comme en atteste sa faible diversité intraspécifique au début de la pandémie (Peng Zhou et al. 2020). Le génome du SARS-CoV-2 est composé d'environ trente milles bases (Peng Zhou et al. 2020; Tang et al. 2020), ce qui fait de lui un des plus longs génomes viraux à ARN connus (Zhukova et al. 2021). Il s'agit d'un virus appartenant à la famille des *Coronaviridae*, à la sous-famille des *Orthocoronavirinae*, au genre *Betacoronavirus*, au sous-genre *Sarbecovirus*, ainsi qu'à l'espèce Severe Acute Respiratory Syndrome-related Coronavirus (Mousavizadeh, Ghasemi 2021). Il s'agit d'un sous-genre viral infectant non seulement les humains, mais aussi de nombreux mammifères, dont notamment les civettes, les chauve-souris, les pangolins ou encore les carnivores domestiques.

Le virion du SARS-CoV-2 possède un génome constitué d'une molécule d'ARN simple brin de polarité positive, entourée d'une nucléocapside hélicoïdale (N), elle-même entourée d'une capsidie formée par plusieurs protéines structurales, dont des protéines spike (S), des hémagglutinines estérases (HE), des protéines de membrane (M) et d'enveloppe (E) ainsi que des phospholipides (Figure 1) (Haute Autorité de Santé 2020).

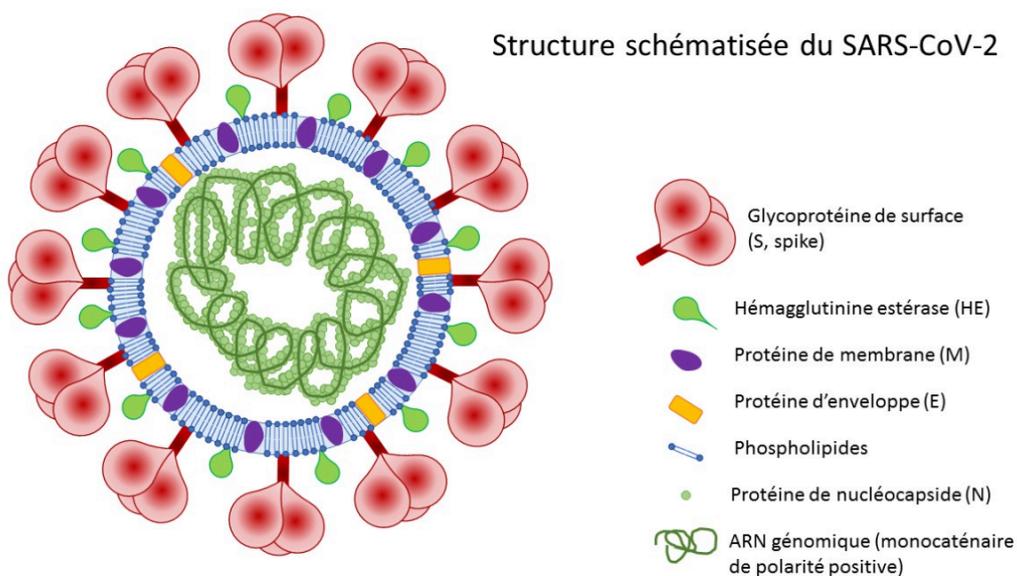


Figure 1 : Structure schématisée du SARS-CoV-2, (Gautheret-Dejean 2020)

L'entrée du virus dans les cellules humaines se déroule en plusieurs étapes, dont la maturation de la protéine S par la sérine protéase TMPRSS2 (Hoffmann et al. 2020). La protéine S se décompose en deux sous-unités S1 et S2 (Malik 2020). De même, le domaine de liaison au récepteur (RBD) de la sous-unité S1 peut se lier à la protéine de l'hôte ACE2. L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) se retrouve à la surface de très nombreuses cellules épithéliales du corps. En effet, elle est exprimée de manière quasi-ubiquitaire dans le système vasculaire, le cœur, les reins, le foie, la rétine, les intestins, le système nerveux central, ainsi qu'au niveau des poumons (Gheblawi et al. 2020). Enfin, c'est la sous-unité S2 qui va assurer la fusion membranaire ultérieure, permettant la pénétration du virus dans le cytoplasme de la cellule hôte (Figure 2), (Weiss, Leibowitz 2011; Malik 2020).

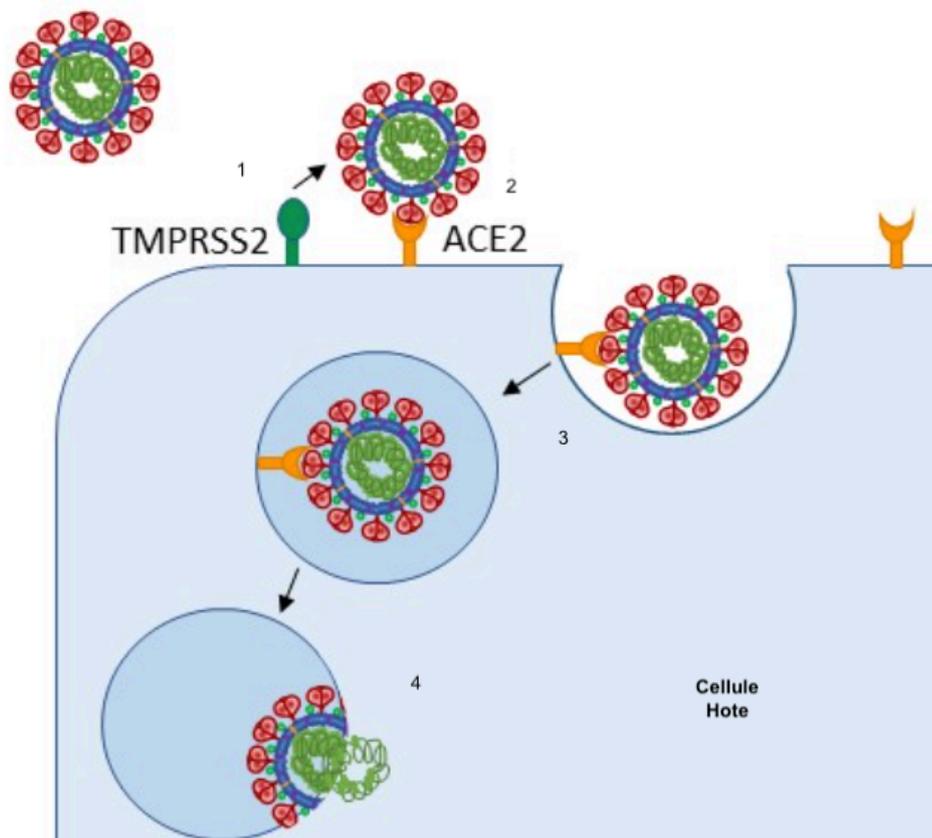


Figure 2 : Mécanisme d'entrée du SARS-CoV-2, 1) Activation de la protéine S par clivage en sous-unité S1 et S2 par la protéase TMPRSS2, 2) Fixation de S1 sur le récepteur ACE2 via le domaine RBD, S2 facilite la fusion membranaire, 3) Endocytose, 4) Fusion des membranes, décapsidation et libération de l'ARN génomique, (Gautheret-Dejean 2020), modifié pour faciliter son utilisation

Après cette entrée dans la cellule, on décrit une fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de la vésicule d'endocytose : la nucléocapside est donc relâchée dans le cytoplasme et l'ARN viral est libre. L'ARN est traduit en protéines non structurales, qui vont être clivées pour former le complexe ARN réplicase transcriptase. Ce complexe permet, finalement, la synthèse de protéines structurales (Figure 3). Les nucléocapsides sont ensuite assemblées à partir des nouveaux génomes et de la protéine N de capsid. Les protéines de l'enveloppe virale viennent se fixer dans les membranes de l'appareil de Golgi. Les nouveaux virions bourgeonnent à partir de la lumière de l'appareil de Golgi et sont ensuite relâchés dans le milieu extracellulaire par exocytose (Haute Autorité de Santé 2020).

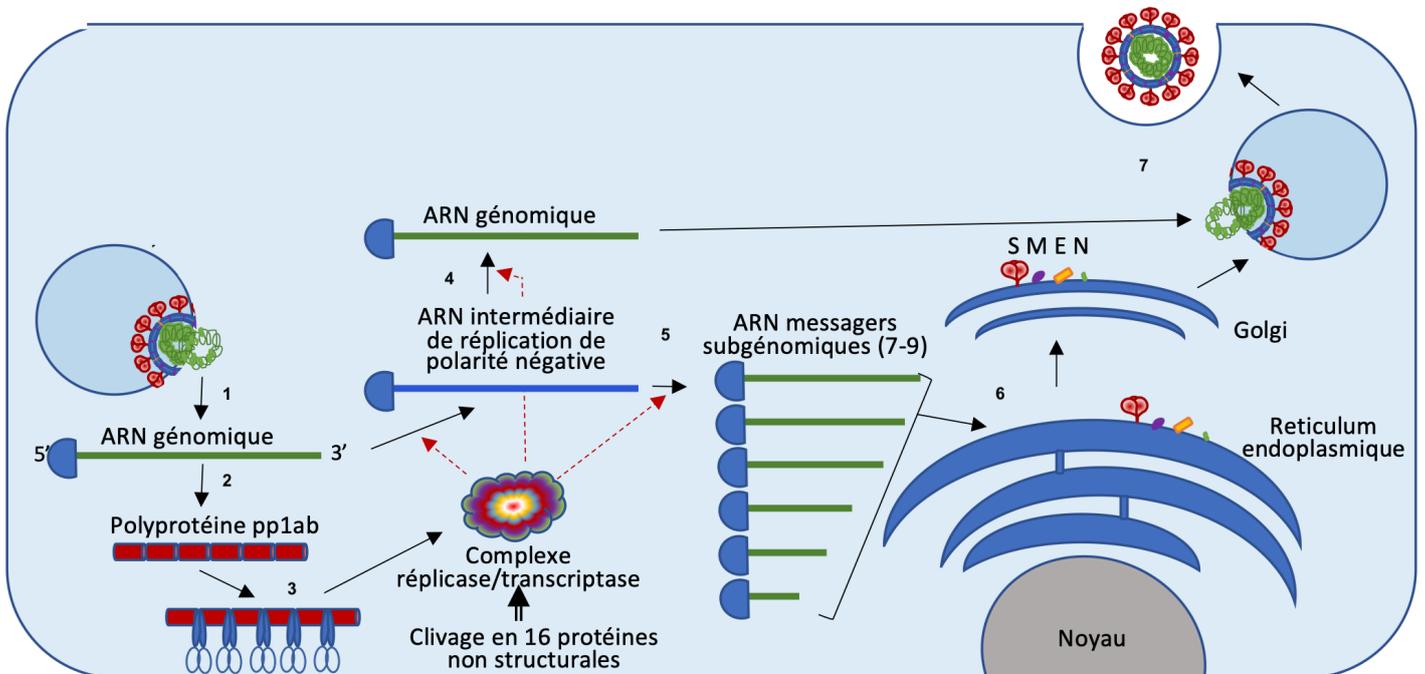


Figure 3 : Mécanisme de multiplication intracellulaire du SARS-CoV-2 : 1) Fusion de l'enveloppe virale, décapsidation et libération de l'ARN génomique, 2) Traduction de l'ARN viral, 3) Clivage en 16 protéines, formation d'un complexe réplicase/transcriptase, 4) Réplication de l'ARN 5) Synthèse d'un ARN subgénomique 6) Traduction de l'ARN subgénomique messenger en protéines de structure, 7) Maturation et assemblage des virions avant l'exocytose (Gautheret-Dejean 2020), modifié pour faciliter son utilisation

c. Les coronavirus humains connus et les origines potentielles du SARS-CoV-2

i. *Les autres coronavirus humains*

Tout d’abord, il existe quatre coronavirus humains (HCoV) endémiques responsables d’infections courantes chez l’homme. Il s’agit de HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63 et HCoV- HKU1, tous ayant potentiellement émergés à partir de réservoirs animaux (Corman et al. 2018). Ces coronavirus humains sont responsables d’infections respiratoires survenant sous forme de cas sporadiques ou de petites épidémies saisonnières (de l’automne au printemps). La transmission se fait essentiellement par gouttelettes (toux, éternuements) et par la voie manu-portée. Ce sont des infections à incubation courte (deux à trois jours), et touchant toutes les tranches d’âge avec des primo-infections survenant chez les enfants et des réinfections symptomatiques pouvant survenir tout au long de la vie (Vabret et al. 2009). Mais ces virus n’appartiennent pas au même sous genre viral que le SARS-CoV-2 (Tableau 1).

Genres	Sous-genres	Espèces
Alphacoronavirus	Duvinacovirus Setracovirus	HCoV-229E HCoV-NL63
Betacoronavirus	Embecovirus Merbecovirus Sarbecovirus	HCoV-OC43 HCoV-HKU1 Mers-CoV Sars-CoV-1 Sars-CoV-2

Tableau 1 : Genres, sous-genres et espèces des coronavirus humains, (Segondy 2020)

Le SARS-CoV-2 est un virus appartenant au sous genre viral comprenant également le virus SARS-CoV-1. Ce dernier est un coronavirus provoquant une maladie respiratoire et a été identifié pour la première fois à la fin du mois de février 2003, lors d'une épidémie apparue en Chine, qui s'est propagée à 4 autres pays (Zhong et al. 2003). Il s'agit du virus humain connu le plus proche du SARS-CoV-2 (Elie, Alizon 2020). Cependant, le SARS-CoV-1 ne possède que 80% de similarité nucléotidique avec le SARS-CoV-2 (Zhukova et al. 2021). Malgré cela, des points communs sont retrouvés dans la physiopathologie de leurs infections, comme la voie de contamination (Van Doremalen et al. 2020; Derraik et al. 2020), les symptômes ou encore, la réponse immunitaire (Shi et al. 2004). Comparé au SARS-CoV-1, le SARS-CoV-2 a un nombre de reproduction de base plus élevé, ce qui représente une plus grande transmissibilité (Liu et al. 2020). Le SARS-CoV-1 est responsable d'environ 800 morts pour 8000 cas, mais ne circule plus dans la population humaine depuis 2004 (Ahmed, Quadeer, McKay 2020).

Une similarité nucléotidique de 50% a aussi été révélée entre le SARS-CoV-2 et le Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV), par analyse du gène de la nucléocapside (Elie, Alizon 2020; Sallard et al. 2020; Maldonado, Bertelli, Kamenetzky 2021). Le MERS-CoV est apparu en Arabie Saoudite en 2012 (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2013) et a causé environ 894 décès depuis son apparition, pour uniquement 2591 cas décrits à ce jour (World Health Organization 2022; Institut Pasteur 2015). Ces chiffres montrent bien que le SARS-CoV-2 semble présenter une infectiosité et un taux de mortalité bien plus importants (Rabaan et al. 2020).

Face aux différences génomiques avec le SARS-CoV-2, il semble improbable que le SARS-CoV-1 ou le MERS-CoV soient des précurseurs à l'origine du SARS-CoV-2.

ii. *Les hypothèses concernant les origines du SARS-CoV-2*

Premièrement, pour chacun de ces deux coronavirus humains abordés (SARS-CoV-1 et MERS-CoV) une espèce de chauve-souris a nettement été identifiée comme espèce réservoir. La civette pour le SARS-CoV-1 et les camélidés pour le MERS-CoV ont, eux, été identifiés comme hôtes intermédiaires (Elie, Alizon 2020). Après un alignement du génome viral, le virus chez les civettes ne présentait que 0,2% de divergence avec le SARS-CoV-1 retrouvé chez l'Homme en 2003 : le saut d'espèce de la civette vers l'Homme est donc très probable (Song et al. 2005; Zhukova et al. 2021). De même, les séquences nucléotidiques du MERS-CoV analysées chez les dromadaires étaient identiques à celles trouvées chez l'Homme (Azhar et al. 2014; Haagmans et al. 2014)

Une nouvelle fois, le réservoir à l'origine du SARS-CoV-2 semble provenir d'une espèce de chauve-souris. En effet, une similarité importante de 96% est trouvée entre les génomes du SARS-CoV-2 et du virus RaTG13. Ce dernier est un virus identifié pour la première fois en 2013, chez une espèce de chauve-souris, *Rhinolophus affinis*, très répandue dans le sud-est asiatique, notamment dans la province de Yunnan, en Chine (Peng Zhou et al. 2020; Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses 2020). Cela fait du RaTG13 le virus le plus proche du SARS-CoV-2 connu à ce jour, avec environ 4% de divergence, soit 1200 mutations sur sa séquence nucléotidique (Song et al. 2005; Zhukova et al. 2021). De plus, les 1200 mutations entre le SARS-CoV-2 et le RaTG13 auraient théoriquement pris 50 à 100 ans d'évolution pour s'accumuler, ce qui nous donne une date comprise entre 1919 et 1969 pour l'ancêtre commun du SARS-CoV-2 et du RaTG13 (Zhukova et al. 2021). Or, cela s'oppose à la faible diversité génomique retrouvée entre les différents séquençages du SARS-CoV-2 chez l'Homme (Sallard et al. 2020). C'est cette faible diversité qui permet d'estimer une origine récente du SARS-CoV-2. Enfin, La région de la protéine virale spike, impliquée dans l'entrée des Coronavirus dans les cellules humaines, présente cinq mutations clés qui ne sont pas présentes dans le génome du virus RaTG13 (Andersen et al. 2020). Au vu du rôle de la protéine spike abordée précédemment, de la diversité génomique et de l'origine récente du SARS-CoV-2, le saut d'espèce direct de la chauve-souris à l'Homme paraît très peu probable (Song et al. 2005; Zhukova et al. 2021).

Cette diversité génomique entre les deux virus permet également de réfuter une autre hypothèse. En effet, les 1200 mutations qui séparent le SARS-CoV-2 du RaTG13 sont réparties aléatoirement, ce qui démontre que le virus ne peut être le fruit d'un laboratoire. En effet, une intervention humaine aurait logiquement introduit des mutations ponctuelles dans des régions circonscrites comme, par exemple, localisées au niveau des séquences RBD, et non sur l'ensemble du génome.

Il existe également le coronavirus RmYN02 découvert en 2019 et identifié chez une espèce de chauve-souris, *Rhinolophus malayanus*, très répandue dans le sud-est asiatique. L'identité génomique commune est d'environ de 93% avec le SARS-CoV-2, mais ce taux d'identité varie le long des séquences (Hong Zhou et al. 2020).

Le SARS-CoV-2 est plus éloigné (90% d'identité génomique) du Pangolin-CoV, un virus retrouvé chez le pangolin dans le territoire de Guangdong, en Chine. Cependant, la séquence protéique RBD de ce dernier est très proche de celle du SARS-CoV-2, avec une seule mutation d'acide aminé à l'origine d'une forte affinité entre la protéine spike et la protéine ACE2 de l'Homme (Wrobel et al. 2021; Andersen et al. 2020). La principale hypothèse est donc qu'une recombinaison ait eu lieu au niveau de la région RBD des virus de la chauve-souris et du pangolin. Cependant l'analyse des souches humaines montre que la séquence RBD mute rapidement, il est alors tout à fait possible que l'apparition de cette mutation dans la région RBD du virus de la chauve-souris soit le fruit du hasard.

Au vu de toutes ces analyses, de nombreux hôtes intermédiaires sont imaginables, comme le pangolin, et la totalité de ces intermédiaires reste encore à découvrir, ainsi que l'espèce principale qui aurait causé la transmission zoonotique (Sallard et al. 2020).

Ce n'est pas la première fois que les coronavirus franchissent la barrière d'espèce. Les coronavirus sont des virus à ARN, les mutations sont donc fréquentes et favorisent ce phénomène. Le SARS-CoV-2 est l'exemple parfait que ce saut d'espèce peut avoir des conséquences majeures et diverses, principalement en santé publique, mais également sur les plans économique et social. Il est donc important de rechercher les réservoirs animaux, ainsi que les espèces intermédiaires potentielles.

Cela justifie l'intérêt de se pencher sur les différentes espèces sensibles au SARS-CoV-2 et de se questionner sur l'épidémiologie de ce virus afin de mieux le comprendre et d'anticiper les conséquences de la maladie qu'il cause.

2. Le SARS-CoV-2 Chez l'Homme

a. La transmission du virus

Chez l'Homme, on sait que la transmission du virus se fait par des gouttelettes ou des aérosols exhalés lors de la respiration, de la toux, des éternuements ou même de la parole (Morawska, Cao 2020; Anderson et al. 2020; Asadi et al. 2020). Les aérosols peuvent être transportés sur de longues distances : dans un espace clos, ils s'accumulent et restent infectieux plusieurs heures. De plus, ils peuvent être inhalés profondément dans les poumons, ce qui facilite la contamination. S'ajoutent à cela les gouttelettes qui, elles, décantent avec la gravité plus rapidement qu'elles ne s'évaporent, contaminant alors les surfaces et favorisant la contamination par contact, d'autant plus que le SARS-CoV-2 a une demi-vie de plus d'une heure dans l'air et de plusieurs heures sur certaines surfaces solides comme le carton (Gehanno et al. 2020; Prather, Wang, Schooley 2020). La contamination par le SARS-CoV-2 est donc complexe chez l'Homme (tout comme pour d'autres virus tels que les virus influenza ou les autres coronavirus humains saisonniers), de par la résistance du virus dans l'environnement et de par son infectiosité.

Au vu de la complexité de la transmission du SARS-CoV-2 chez l'Homme, il est aisé d'imaginer que ces modes de contaminations se multiplient pour les animaux, puisqu'ils ont également des comportements tels que des reniflades, du léchage ou des aboiements.

Pour continuer, les aérosols, comprenant des particules virales submicroniques, atteignent directement la région alvéolaire où le système immunitaire semble temporairement contourné en inhibant les IFN de types I et III (Kaushic 2020). Le SARS-CoV-2 se multiplie rapidement, jusqu'à trois fois plus vite que le SARS-CoV-1 par exemple (Ogando et al. 2020; Chu, Chan, Yuen, et al. 2020). Il peut atteindre le pharynx pour être excrété avant qu'une réponse immunitaire innée efficace soit mise en place. Le patient peut alors excréter avant de savoir qu'il est contaminé. A Wuhan, on estime que les patients asymptomatiques non diagnostiqués étaient responsables de 79% des infections virales (Asadi et al. 2020). On sait qu'une minute de parole représente mille aérosols, ce qui peut représenter jusqu'à cent milles virions émis par minute (Stadnytskyi et al. 2020). Enfin, des mesures ont montré que la toux et les éternuements intenses propulsent les gouttelettes les plus importantes jusqu'à 6 mètres (Morawska, Cao 2020). De plus les aérosols créés durant les éternuements, la toux ou même la parole peuvent être portés par les courants d'air (Buonanno, Stabile, Morawska 2020).

Cette capacité qu'a le virus à se propager facilement dans des gouttelettes de mucus ou de salive transportables dans l'air, sa résistance sur les surfaces – bien que la contamination manuportée ne semble pas être la plus importante (Birgand, Kerneis, Lucet 2022) – et le fort taux d'individus infectés, mais asymptomatiques, font que l'interprétation des différentes sources de contaminations est difficile et complexifie l'analyse épidémiologique de la maladie.

b. Pathogénicité du SARS-CoV-2

Le virus du SARS-CoV-2 cible principalement les pneumocytes de type II ainsi que les cellules ciliées, où il se réplique de manière importante (Liu et al. 2021). Pour avoir un point de comparaison, l'infection va produire 3,2 fois plus de particules virales infectieuses que le SARS-CoV dans les tissus pulmonaires infectés, sur une période de 48 heures (Chu, Chan, Wang, et al. 2020). Au-delà de cela, il va provoquer une réaction inflammatoire moins marquée que celle du SARS-CoV-1. De plus, chez certains individus, le SARS-CoV-2 ne semble pas déclencher de manière significative

l'expression d'un quelconque interféron dans les premiers jours suivant l'infection. Cette réponse IFN retardée contribuera au développement des formes grave du COVID-19 (Kaushic 2020). De plus, dans une étude menée par des chercheurs de l'université d'Hong Kong, sur un panel de 13 gènes codant pour des médiateurs pro-inflammatoires (quatre cytokines pro-inflammatoires et neuf chimiokines pro-inflammatoires) jouant un rôle essentiel dans le recrutement et l'activation des cellules immunitaires, le SARS-CoV-2 n'entraînait la sur-régulation que de 5 d'entre eux. Au contraire, le SARS-CoV-1 était responsable de l'activation de 11 de ces médiateurs (Chu, Chan, Wang, et al. 2020).

Dans un premier temps, le virus échappe en partie au système immunitaire de manière passive. D'autres mécanismes vont directement empêcher la cellule hôte d'initier la transduction d'un signal IFN nécessaire à la réponse immunitaire, par exemple. En effet, en activant des exonucléases, le virus dégrade les ARNm, diminuant ainsi la traduction de manière générale, et limite ainsi l'intensité de la réponse interféron (Khalaf et al. 2020; Kikkert 2020). Dans un second temps, des lymphocytes T CD4+ activés, se différencient en cellules Th1 et sont responsables de la libération des cytokines pro-inflammatoires IL-6, GM-CSF et IFN- γ . Par exemple, le GM-CSF (facteur stimulant les colonies de granulocytes et de macrophages) s'active pour produire des monocytes inflammatoires (CD14+ et CD16+), qui libèrent davantage d'IL-6 (Yonggang Zhou et al. 2020). L'hyper-inflammation liée au SARS-CoV-2 peut impliquer des niveaux très élevés d'IL-1- β , d'IL-6 et de TNF- α (un facteur de nécrose tumorale produit essentiellement par les macrophages activés (Ma 2001)). Dans certains cas, ces niveaux sont tels qu'on parle alors d'orage ou de tempête cytokinique (Robba et al. 2020; Mehta et al. 2020). Tous cela explique la plupart des formes graves de la maladie du COVID-19 (Zhe Zhu et al. 2020; Mehta et al. 2020). Ces formes graves peuvent aller jusqu'au Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë (SDRA) avec une destruction importante de la barrière alvéolo-capillaire (Khalaf et al. 2020).

Cette réaction inflammatoire disproportionnée possible vient s'ajouter au caractère cytopathique du SARS-CoV-2. En effet, ce dernier peut causer la formation de plaques de cellules syncytiales par fusion cellulaire, une apoptose, la destruction de l'intégrité de l'épithélium ou encore une modification structurelle des cellules hôtes avec disparition des cils des cellules ciliaires par exemple (Na Zhu et al. 2020). Enfin, au vu de la répartition de la protéine ACE2, le spectre clinique du COVID-19 ne se limite pas à une pneumonie locale, mais peut représenter également une maladie multi organique avec l'implication de différents organes et un potentiel de complications systémiques (Hamming et al. 2004). Du fait du nombre de paramètres importants, réplication virale et immuno-pathologie provoquent une grande variété de présentations cliniques, allant de symptômes légers à l'insuffisance pulmonaire et au décès (Nicholls et al. 2003).

c. Symptômes et facteurs de risque

Les formes graves, notamment causées par la tempête cytokinique, concernent principalement les sujets âgés ou ayant des comorbidités telles que le diabète, l'obésité, l'hypertension, l'insuffisance cardio-respiratoire, le cancer, la maladie rénale chronique ou l'immunosuppression. La maladie rénale chronique est statistiquement la comorbidité la plus importante menant au décès. L'obésité est, elle, associée à un taux important de forme grave, mais non à la mortalité des patients atteints du COVID-19 (Ng et al. 2021).

De plus, chez l'Homme, il est désormais connu que la population masculine est plus vulnérable face à l'infection par le SARS-CoV-2 que les femmes (Guan et al. 2020; Bwire 2020; Chakravarty et al. 2020). Plusieurs hypothèses sont formulées pour expliquer cela, telle qu'une expression plus élevée de la protéine ACE2 sur les cellules épithéliales des hommes par rapport aux cellules des femmes. De même, l'implication des différences immunologiques liées au sexe et induites par les hormones sexuelles et le chromosome X sont fortement suspectées pour expliquer ces observations. Cependant, une part significative, de cette différence dans le nombre de décès est causée par le mode de vie, avec une consommation de tabac et d'alcool plus importante chez les hommes (Bwire 2020). Enfin, des études ont rapporté

que les femmes avaient une attitude plus responsable face à la pandémie de COVID-19 que les hommes. En effet, les gestes barrières et la désinfection des mains ainsi que de l'environnement s'avèrent être bien mieux respectés par les femmes d'après un sondage espagnol (De La Vega et al. 2020).

Selon la Haute Autorité de Santé, 85% des cas sont paucisymptomatiques, ce qui signifie qu'ils ne présentent que très peu de symptômes, sans pour autant qu'on puisse affirmer qu'ils ne soient pas contaminés par le SARS-CoV-2. Si l'on en croit les nombreuses études abordant les symptômes du SARS-CoV-2 chez l'Homme, quand des symptômes sont décrits, ils peuvent être très divers (HEDIYE-BAG, Derya 2021). On retrouve alors dans plus de cinquante pourcents des cas de la toux, une douleur (céphalée, myalgies, ...) et de l'hyperthermie (Figure 4).

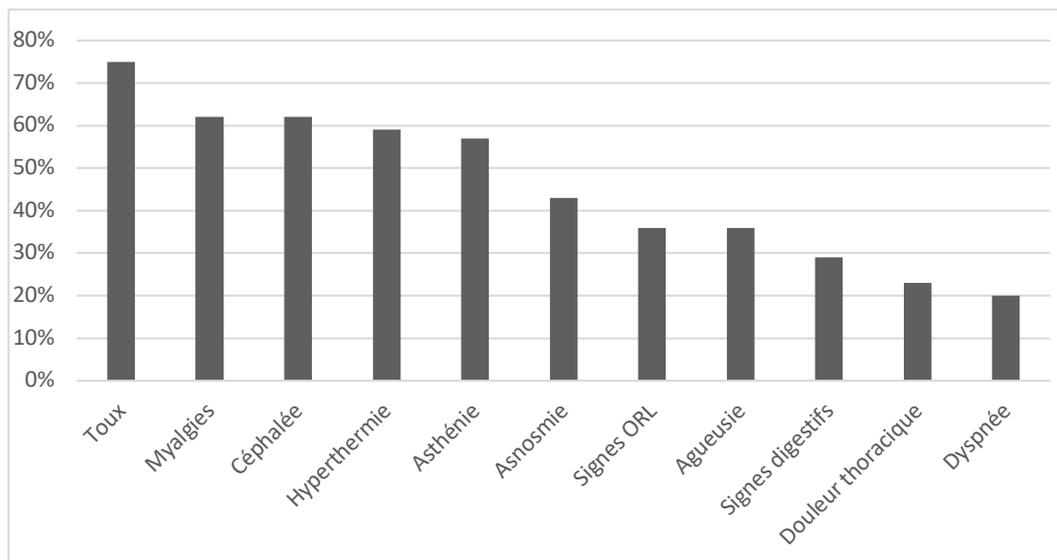


Figure 4 : Signes cliniques les plus fréquents des patients infectés par le SARS-CoV-2, après comparaison de 12 études (Hediye-Bag, 2021)

Chez l'Homme, parfois une excrétion transitoire du virus et une absence de réponse immunitaire sont rapportées. De même que pour l'influence sur le sexe et des différentes comorbidités, il s'agit d'observations chez l'Homme, sans qu'on puisse savoir réellement ce qu'il en est chez les animaux.

a. Détection du virus et diagnostic en médecine humaine

i. La PCR

Concernant la détection du virus chez l'Homme, la réaction de polymérisation en chaîne quantitative est la technique la plus utilisée (Ahmed, Quadeer, McKay 2020).

La Polymérase Chain Reaction (PCR) est une technique de réplication ciblée *in vitro*. Pour se faire, une série de réactions permettant la réplication d'une matrice d'ADN double brin est répétée en boucle. Ainsi, au cours de la réaction PCR, les produits obtenus à la fin de chaque cycle (amplicons) servent de matrice pour le cycle suivant : l'amplification est donc exponentielle. La PCR est constituée de trois étapes (Figure 5) : tout d'abord la dénaturation de l'ADN, pour obtenir des matrices simple brin. Puis vient l'hybridation où l'on vient borner et amorcer la réplication de la séquence à amplifier à l'aide d'oligonucléotides amorces spécifiques. Enfin, vient la polymérisation, qui permet de réaliser la réaction de polymérisation du brin complémentaire. A la fin de chaque cycle, les produits sont sous forme d'ADN double brin. Les trois étapes, constituant un cycle de PCR, sont effectuées à des températures différentes permettant de contrôler l'activité enzymatique. La réaction PCR est extrêmement rapide et ne dure que quelques heures au maximum (Jaton 2007).

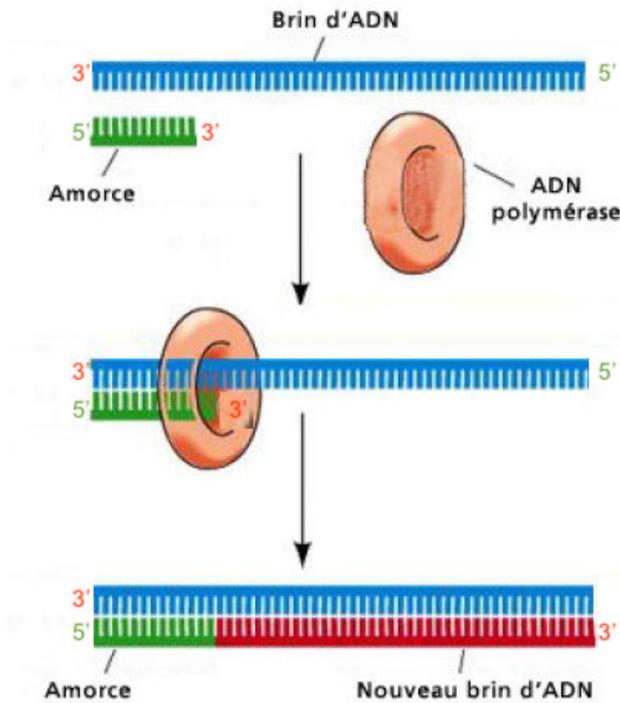


Figure 5 : Principe de la PCR, (Institut Agro Montpellier 2016)

Le SARS-CoV-2 étant un virus ARN, il est indispensable de réaliser une RT-PCR (reverse transcription PCR). Pour cela, une enzyme (transcriptase inverse) va être utilisée afin de retrotranscrire l'ARN en un ADN complémentaire pour enfin réaliser une PCR (Figure 6) (Freeman, Walker, Vrana 1999).

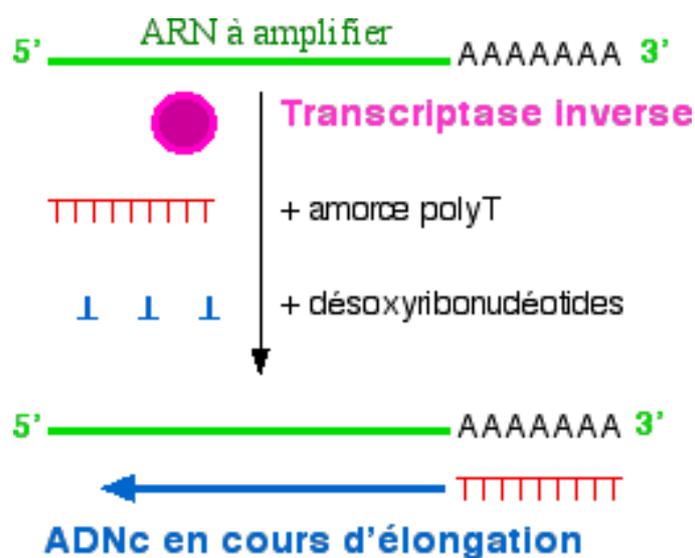


Figure 6 : Principe de la transcription inverse, (ENS Lyon 2001)

La recherche du SARS-CoV-2 par PCR à visée diagnostic est généralement quantitative : on parle de qPCR. Il existe différentes techniques de qPCR comme la PCR Taqman (Figure 7), pour laquelle on utilise des sondes d'hydrolyse afin d'augmenter la spécificité de la PCR. Cette technique repose sur la fonction exonucléase 5' vers 3'. La sonde Taqman est marquée par un fluorophore (*reporter*) et par un désactivateur (*quencheur*) qui inhibe la fluorescence du fluorophore. Si la sonde Taqman est dégradée par l'activité exonucléase de l'ADN Polymérase, alors la sonde Taqman et les fluorophores ne sont plus liés et l'émission du *reporter* est alors possible. L'augmentation du signal fluorescent est proportionnel au nombre de copies polymérisées à chaque cycle de la PCR (Holland et al. 1991; Livak et al. 1995).

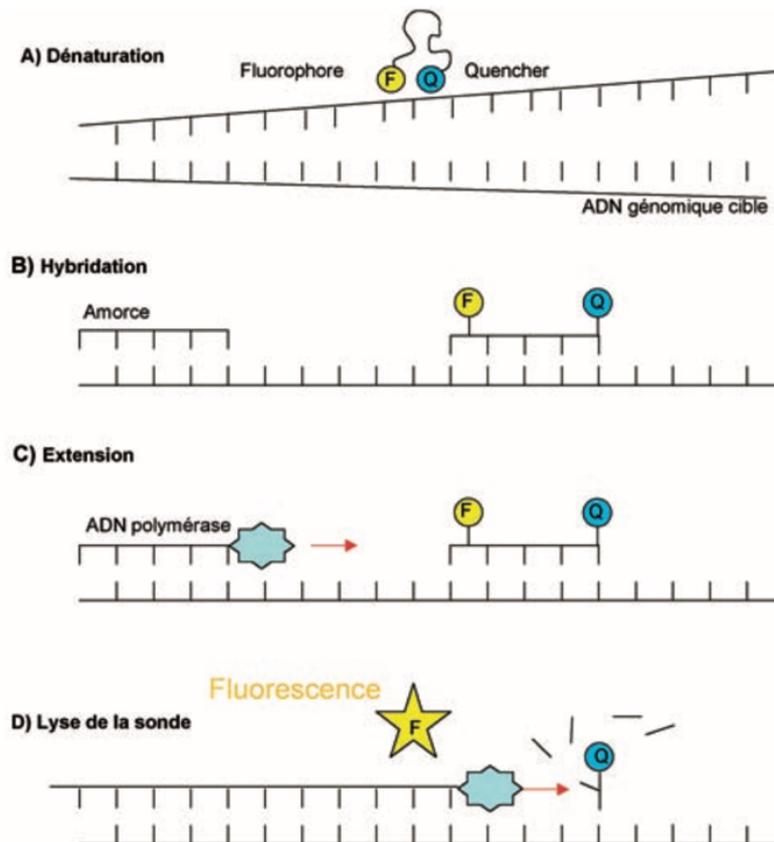


Figure 7 : Principe de la PCR Taqman en temps réel, **A.** Dénaturation de l'ADN double brin du gène cible sous l'effet de la chaleur, **B.** Lors de la phase d'hybridation, les amorces et la sonde spécifiques se fixent sur le brin complémentaire de l'ADN monobrin. **C.** Début de la polymérisation **D.** Au cours de la polymérisation, la Taq polymérase va hydrolyser la sonde, libérant le reporter (le fluorophore) Après le passage de la Taq polymérase, le reporter n'est plus relié physiquement au suppresseur (le quencher) et il y a émission de fluorescence, (Jaton 2007)

Cependant, cette technique perd en sensibilité passé un certain temps : les quantités d'ARN viral du SARS-CoV-2 présentes dans les cavités nasales commencent à diminuer 14 jours après le début des symptômes, pour être souvent indétectables au 21^{ème} jour (Figure 9) (Zou et al. 2020; Pan et al. 2020).

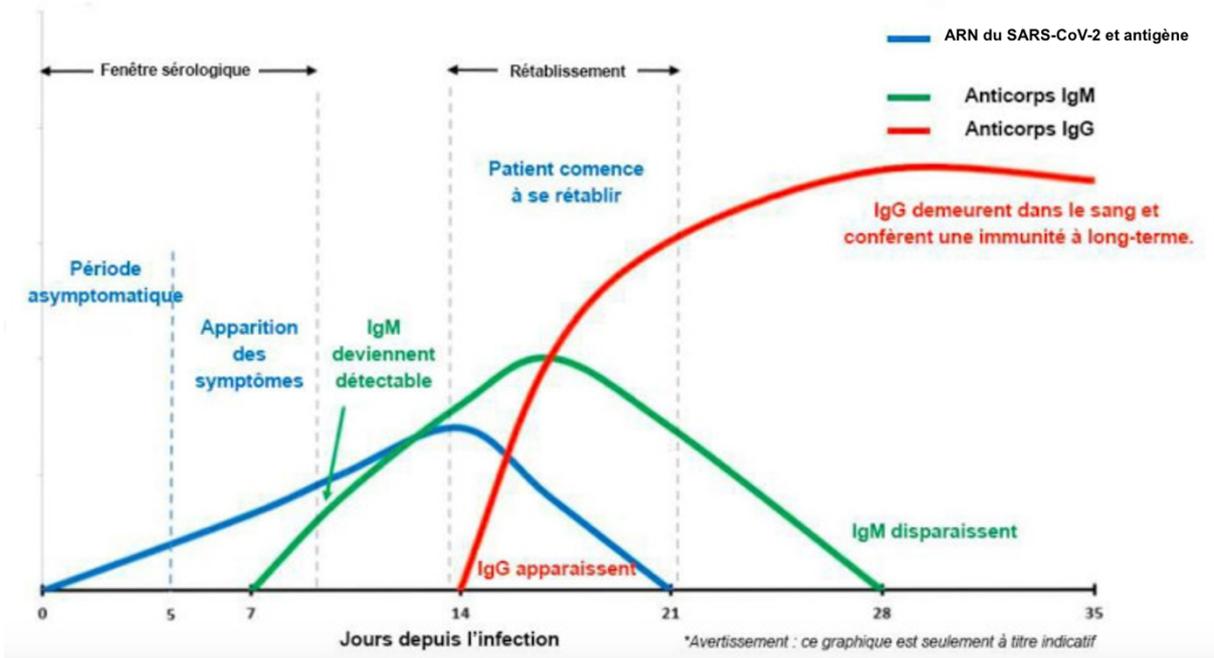


Figure 9 : Cinétique de la détection de l'ARN viral ainsi que celles des anticorps Anti-SARS-CoV-2 IgM et IgG, (Griscelli, Roussy 2020)

Le résultat des PCR est donc fréquemment négatif au-delà des 15 jours post infection, ce qui ne permet pas d'objectiver une infection passée.

Ces analyses PCR sont réalisées sur des prélèvements divers tels que l'oropharyngé, le rhinopharyngé ou encore de la salive. Les résultats de PCR peuvent être également faussement négatifs à cause d'une mauvaise manipulation des échantillons d'acide nucléique, d'un échantillonnage inadéquat entraînant une insuffisance de matériel génétique viral au point de détection ou à des amorces mal conçues (Long et al. 2020). Le prélèvement rhinopharyngé semble avoir une meilleure sensibilité que les prélèvements oro-pharyngés (Hantz 2020). Les prélèvements salivaires semblent, d'après quelques études, présenter une sensibilité inférieure aux deux autres prélèvements (To et al. 2020).

ii. Les tests sérologiques

- *Cinétique de la réponse humorale*

La recherche sérologique permet de répondre à certains des problèmes liés à la PCR. C'est une approche diagnostic qui pourrait fournir des informations à la fois sur les infections virales actives (au-delà de 7 jours post infection, les test ELISA ne sont en réalité pas utilisés en pratique pour le dépistage) et sur les expositions passées. Ces tests ciblent principalement les protéines immunogènes du coronavirus : la protéine de spicule (*spike*, en anglais), S, qui est la protéine virale la plus exposée, et la protéine de la nucléocapside N, qui est abondamment exprimée pendant l'infection (Okba et al. 2020). De plus, le domaine de liaison au récepteur (RBD), qui est situé le long de la protéine S, est également une cible d'intérêt pour détecter la présence d'anticorps spécifiques du SARS-CoV-2 (Tai et al. 2020; Lv et al. 2020).

Des études ont montré que des IgA pouvaient être présentes dans le sérum 5 jours après l'infection, tandis que les IgM sont retrouvées après 7 jours et jusqu'à 28 jours, et que les IgG le sont après 14 à 20 jours et jusqu'à 24 mois (Figure 8) (Vashist 2020; Xiao, Gao, Zhang 2020). De plus, les taux d'IgM et d'IgG anti-SARS-CoV-2 augmentent progressivement avec les phases d'infection (Long et al. 2020). Il est intéressant de noter qu'il ne semble pas y avoir de corrélation entre les taux de séroconversion et le sexe (Long et al. 2020). Cependant, la séroconversion semble être corrélée à la gravité de la maladie, puisqu'un taux plus élevé des deux anticorps est noté chez les patients présentant une infection plus grave par le SARS-CoV-2 (Okba et al. 2020; Long et al. 2020; Yu et al. 2020). De même, on observe donc des taux plus élevés d'anticorps anti-SARS-CoV-2 chez les personnes âgées, de plus de soixante ans en moyenne, ces derniers présentant une gravité de la maladie bien plus importante en moyenne (Matusali et al. 2021). Cela s'oppose cependant à l'immunosénescence qui montre qu'un âge avancé a un impact négatif sur le développement du système immunitaire et sur sa capacité à fonctionner (Gruver, Hudson, Sempowski 2007). En raison d'un niveau élevé de similarité (90 %) entre les protéines N du SARS-CoV-1 et du SARS-CoV-2, les antigènes de la protéine N du SARS-CoV-1 ont également été utilisés pour la détection sérologique des anticorps spécifiques du SARS-CoV-2. Ces tests basés sur la protéine N se sont avérés plus sensibles que les

tests basés sur la sous-unité S1 qui, elle, présente cependant la plus forte spécificité (Okba et al. 2020). Pour ce qui est de la protéine S complète, c'est elle qui présente la plus forte sensibilité concernant la détection des IgG (Mahallawi 2021). Malgré une réaction croisée connue, l'utilisation des antigènes du SARS-CoV-1 pour diagnostiquer les infections par le SARS-CoV-2 peut être fiable. En effet, étant donné que le SARS-CoV-1 ne circule plus dans la population humaine depuis 2004 (Ahmed, Quadeer, McKay 2020) et que les antigènes du SARS-CoV-1 sont indétectables dans 91 % des échantillons de sérum des patients après 6 ans, il s'avère alors très peu probable que s'il y a positivité du test, cela soit dû à une infection par le SARS-CoV-1 et non le SARS-CoV-2 (Tang et al. 2011). Bien qu'une forte réponse IgA ait également été détectée chez les patients infectés par le SARS-CoV-2, avec un pic de séroconversion atteint après deux semaines, les tests immunologiques basés sur les IgA semblent être moins spécifiques que les tests basés sur les IgG, en raison de la réactivité croisée avec les IgA provenant d'infection due à d'autres coronavirus (Okba et al. 2020).

- *Le test ELISA*

Le test Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) est le test sérologique classique le plus couramment utilisé pour le SARS-CoV-2 (Mekonnen et al. 2021). Le principe a été inventé dans les années 1960 et est largement utilisé depuis les années 1970 (Lequin 2005). Les méthodes ELISA peuvent être divisées en plusieurs types (ELISA sandwich, ELISA indirect, ELISA double anticorps, ELISA compétitif, ...) (Butler 2000). C'est la méthode indirecte qui est la plus couramment utilisée dans le diagnostic sérologique du COVID-19 (Mekonnen et al. 2021). Cette technique utilise un anticorps lié à une enzyme (Figure 10), qui va se lier lui-même à un anticorps spécifique à un antigène fixé à la surface du support. Un lavage est alors réalisé. Ensuite, un substrat est ajouté et sera hydrolysé ou non en fonction de la présence de l'enzyme, ce qui permet de produire un changement de couleur ou un signal lumineux. Le changement de couleur est proportionnel à la quantité d'anticorps spécifiques à l'antigène (Lin 2015).

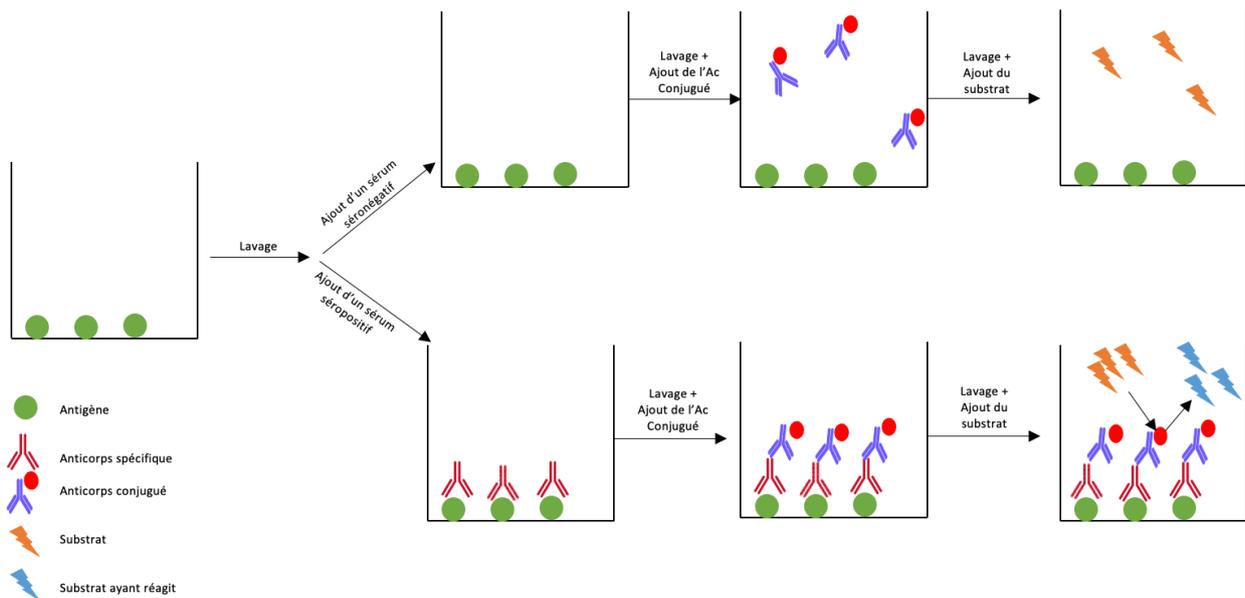


Figure 10 : Schémas explicatifs du principe de l'ELISA indirect
(travail personnel)

- *Les tests d'hémagglutination*

En temps normal les tests d'hémagglutination (HA) sont utilisés pour des tests virologiques, dont le principe consiste à coupler un virus, ayant une capacité hémagglutinante, à des globules rouges afin d'observer une agglutination de ces derniers, confirmant la présence du virus (Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Immunization and Respiratory Diseases 2021; Maurice, Provost 1966). Ils ont, également, été utilisés de nombreuses fois dans l'histoire comme pour le groupage sanguin (Ashiba et al. 2015) ou bien la détection des virus de la grippe (Killian 2014). Ils ont le grand avantage d'être simples, peu coûteux, lisibles à l'œil nu et ne nécessitent pas de technologie sophistiquée pour leur application. Pour détecter la présence d'anticorps c'est un test d'inhibition d'hémagglutination (IHA) qui est en revanche nécessaire. Ce test consiste, à nouveau, à coupler un virus, ayant une capacité hémagglutinante, à des globules rouges en ajoutant cette fois ci différentes dilutions de sérum afin d'étudier l'inhibition de l'hémagglutination (Figure 11) (Mammette 2002; Truelove et al. 2016).

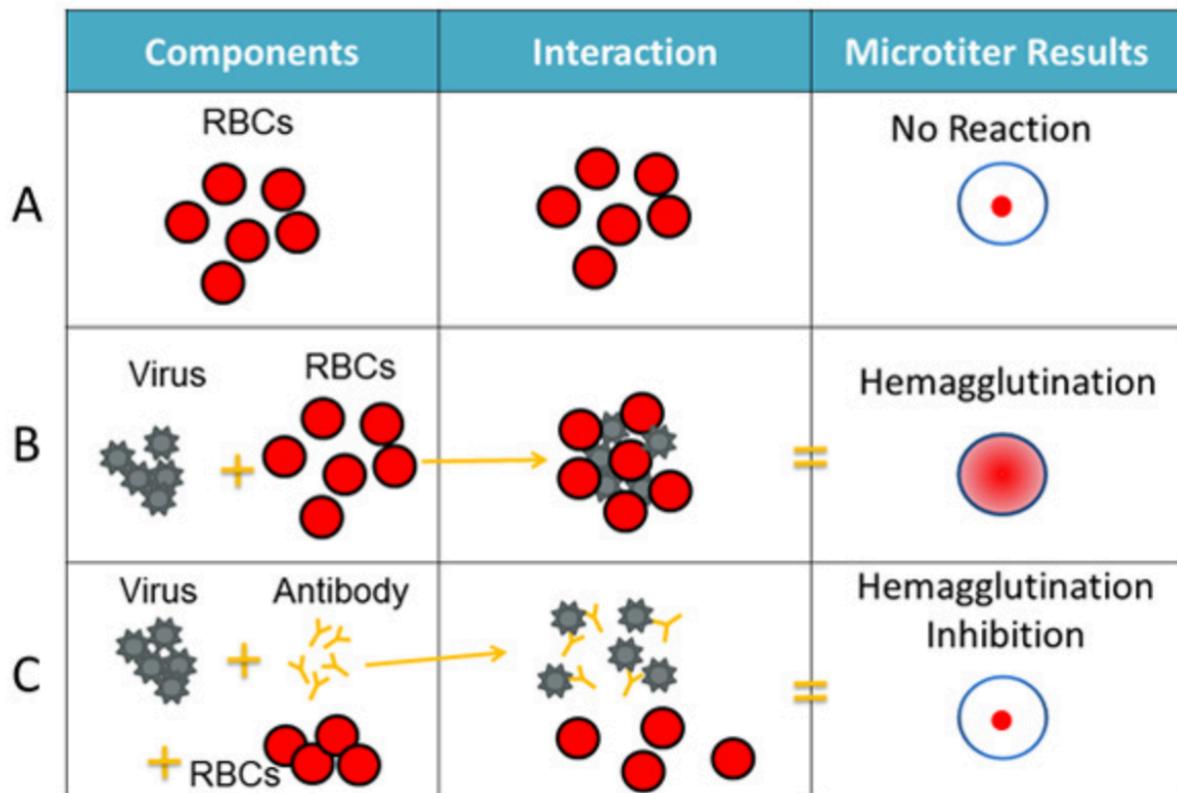


Figure 11 : Schémas explicatifs du principe du test d'inhibition de l'hémagglutination, **A** : Les globules rouges (RBCs) seuls ne présentent aucune hémagglutination, **B** : En présence du virus une hémagglutination est observée, **C** : L'ajout de sérum contenant des anticorps inhibe l'hémagglutination, (Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Immunization and Respiratory Diseases 2021)

Le SARS-CoV-2 n'est pas un virus avec une capacité hémagglutinante. Une équipe de recherche de l'université d'Oxford a mis au point un test utilisant un intermédiaire, appelé IH4, étant un anticorps à domaine unique des camélidés qui se lie aux globules rouges humains via la glycopherine A présente à leur surface. La RBD de la protéine S du SARS-CoV-2 a été liée à IH4 pour produire la protéine IH4-RB, capable de se lier aux globules rouges (GR) humains et au domaine RBD du virus SARS-CoV-2 (Townsend et al. 2020). Le principe est le suivant : on mélange dans le puits d'une plaque 96 (à fond en V) le réactif IH4-RBD, des GR de groupe O, et le sérum à tester. Si des anticorps dirigés vers le SARS-CoV-2 sont présents dans ce dernier, alors il y aura une agglutination au fond du puits en V et non une lame comme pour le témoin négatif (Figure 12) (Wegmann, Smithies 1966). Il a bien été vérifié que sans la protéine RBD aucune agglutination n'avait lieu. Ils ont obtenu une sensibilité

entre 88% et 93% et une spécificité de 99% avec ce test d'hémagglutination. Si des GR de groupe O ont été utilisés, c'est pour éviter toute réaction d'hémolyse due à une incompatibilité entre le groupe sanguin des GR et celui de l'individu dont le sérum est testé (Townsend et al. 2020). En médecine humaine, le test HA est maintenant utilisé par plusieurs laboratoires dans le monde pour des études épidémiologiques et cliniques (Jayathilaka et al. 2021; Kamaladasa et al. 2021; Jeewandara et al. 2021). Le test qui a été utilisé pour la plupart des études a pour objectif la détection d'anticorps dirigés contre le domaine de liaison au récepteur (RBD) de la protéine S du SARS-CoV-2, car la majorité des anticorps neutralisants se fixent sur le RBD (Piccoli et al. 2020)

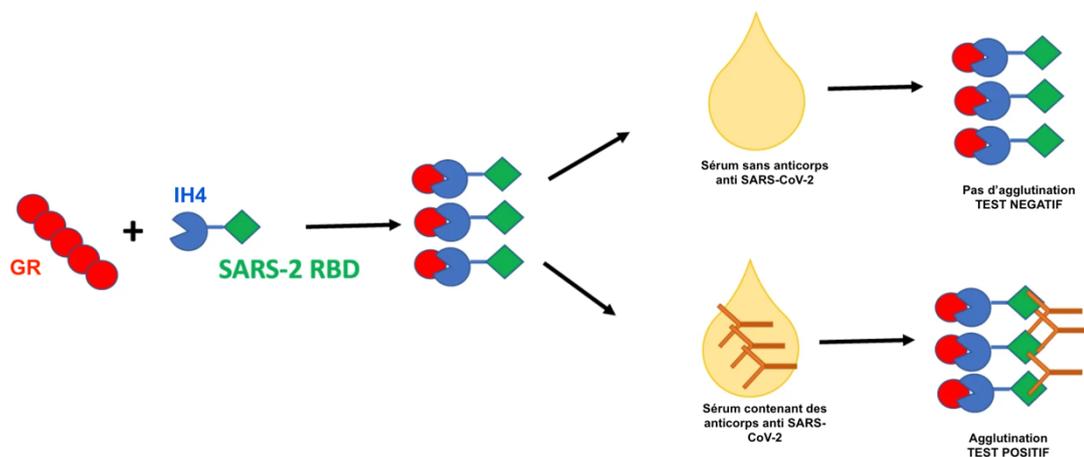


Figure 12 : Principe du test sérologique d'hémagglutination,
(Townsend et al. 2020)

- *La séroneutralisation*

La séroneutralisation (Figure 13), est une technique lourde à mettre en place ne se prêtant pas à l'analyse systématique d'échantillonnage de grande taille, mais reste la référence pour l'évaluation de l'activité neutralisante des anticorps lors de l'infection par le SARS-CoV-2 et pour les virus en général (Matusali et al. 2021). Le virus du SARS-CoV-2 est cytopathique (Na Zhu et al. 2020), la séroneutralisation permet d'objectiver une réduction des plages de lyse en présence d'anticorps spécifiques neutralisants. Le sérum à tester est dilué et mélangé à une suspension virale. Le tout est ensuite incubé afin de laisser aux anticorps, s'ils sont présents, le

temps de neutraliser le virus. Enfin, le mélange est reparti sur une culture cellulaire. Les virus non neutralisés vont alors infecter les cellules de la culture. On pourra alors estimer la concentration d'anticorps la plus basse neutralisant le virus et empêchant la lyse cellulaire en fonction des différentes dilutions du sérum initial. Selon le virus étudié, la lecture peut se faire par observation microscopique, par fluorescence ou après l'usage de colorant spécifique (Bourdin, Bernard 1967; Corthier, Aynaud 1973). La séroneutralisation est le « gold standard » de l'analyse sérologique.

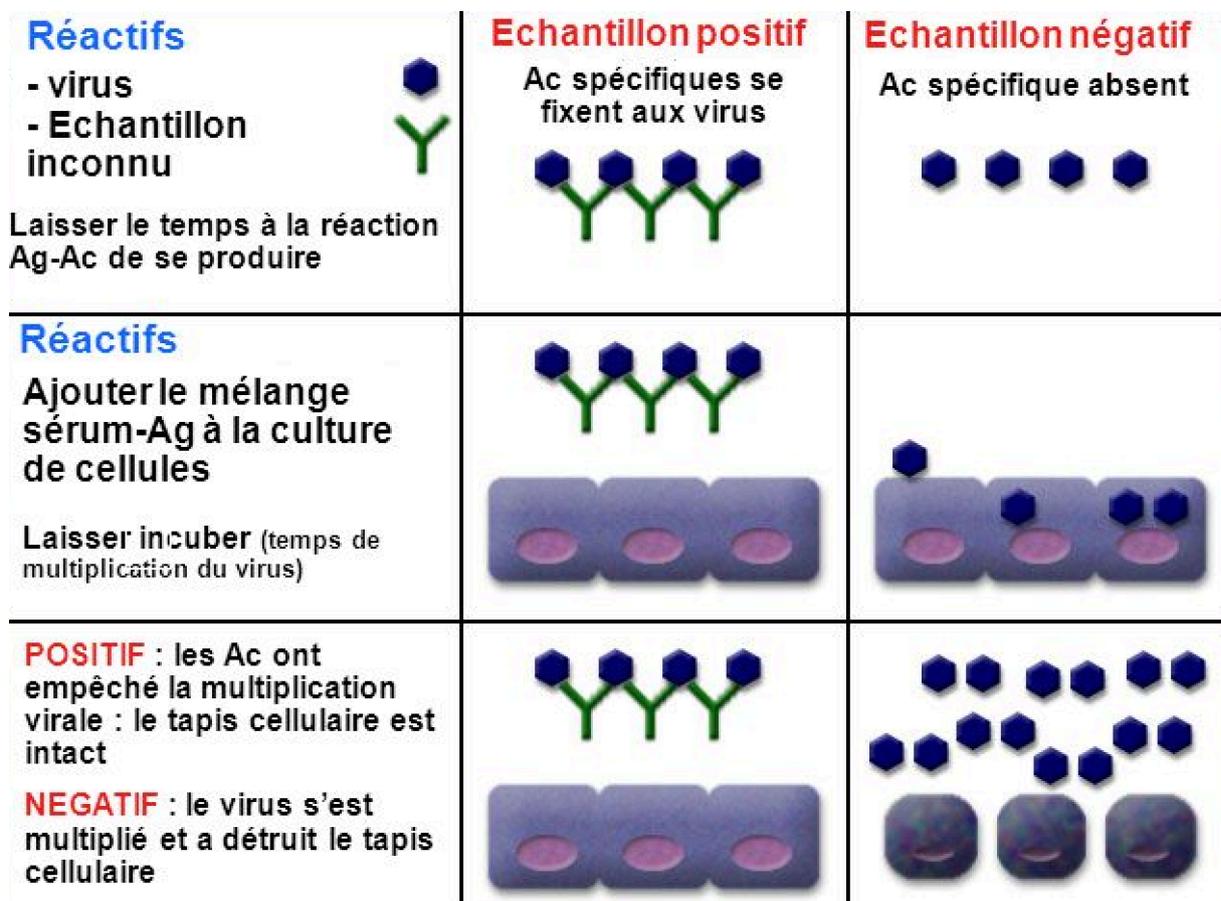


Figure 13 : Principe de la séroneutralisation, (Villeneuve 2014)

Bien que les résultats des tests sérologiques soient très variables en fonction de l'antigène choisi, du manipulateur ou de la conservation des sérums, certains d'entre eux affichent d'excellentes performances. Grâce à l'innovation technologique et à une évaluation réglementaire rigoureuse, la précision et l'efficacité des tests sérologiques continueront à contribuer à la prévention de l'infection par le SARS-CoV-2 (Gong et al. 2021).

Il est important de garder à l'esprit que l'un des principaux inconvénients des tests immunologiques est l'incapacité à détecter la présence d'une infection au stade précoce de la maladie car les anticorps mettent plusieurs jours à être générés après l'exposition à un matériel étranger (Nicholson 2016). Donc, une infection récente peut donner des résultats faussement négatifs lors des tests sérologiques. En outre, en raison de la constitution génétique unique de chaque individu, il y aurait une variabilité inhérente de la réponse des anticorps chez l'Homme (Fierz 2003). En effet la production d'anticorps varie entre chaque individu donc le seuil de détection et la cinétique de ces derniers également. Parfois une absence de séroconversion est décrite chez certains individus car seule une réponse à médiation cellulaire se met en place (Gallais et al. 2021). Cette variabilité se retrouve chez les animaux.

3. Le SARS-CoV-2 chez les animaux

Aujourd'hui les animaux de compagnie font partie de notre quotidien, principalement en occident où le taux d'animaux de compagnie a grandement augmenté en parallèle avec l'urbanisation. De nos jours, environ un foyer sur deux, héberge un animal domestique (Testa, FACCO/TNS SOFRES 2022; Statista Research Department, 2022). En effet, le nombre de chats dans les foyers en France a augmenté de 54% en 20 ans alors que le nombre de chien a diminué de 18,7%. Ce qui finalement représente une augmentation de 20% du nombre de chien ou de chat dans les foyers, en France, en 20 ans (Figure 7) (Statista Research Department, 2020; FACCO / KANTAR TNS 2018).

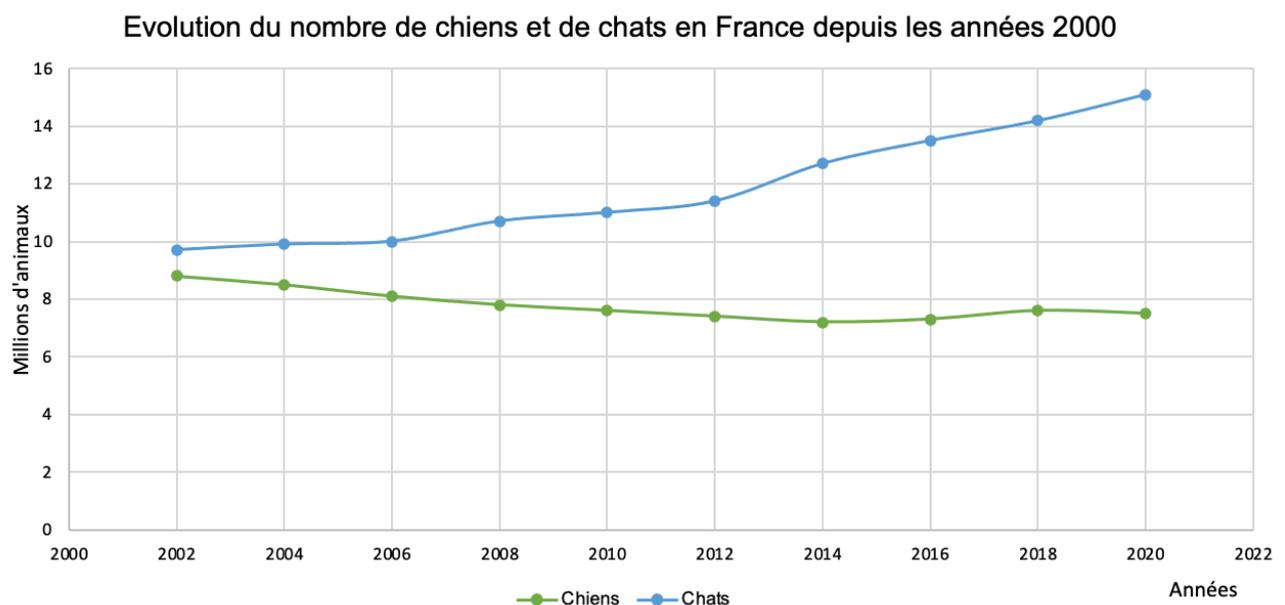


Figure 14 : Évolution du nombre de chiens et de chats en France entre 2000 et 2020, (travail personnel)

La proximité entre l'Homme et les animaux domestiques au sein des foyers devient donc très importante. Par exemple, en France 30% des chiens et 45% des chats vont même jusqu'à dormir sur le lit des propriétaires (Chomel, Sun 2011). Les risques de zoonoses sont donc fortement favorisés par la présence d'animaux de compagnie dans les foyers. Une contamination pouvant se faire de l'animal vers le propriétaire ou du propriétaire vers l'animal. Les caresses, les contacts rapprochés, les morsures ou les déjections en sont les principaux vecteurs (Courtioux 2022). Cela

fait du chien et du chat les cibles logiques d'enquêtes épidémiologiques lorsque l'on parle de santé publique.

a. La sensibilité des espèces

Un rapport précédent, de 2003, a démontré que le SARS-CoV-1 peut infecter les furets et les chats ce qui implique qu'ils pourraient également être sensibles au SARS-CoV-2 (Martina et al. 2003). Très rapidement, en mars 2020, une étude s'est intéressée à la susceptibilité des animaux aux SARS-CoV-2. Il a alors été montré que la réplication du virus est faible chez les porcs, les poules et les canards, qu'elle est limitée chez les chiens et enfin qu'elle est plus importante chez les chats et les furets (Shi et al. 2020). Les protéines ACE2 de diverses espèces, y compris des animaux de compagnie, des animaux de rente et de plusieurs animaux sauvages, pourraient se lier au domaine de liaison du récepteur (RBD) du SARS-CoV-2 et faciliter sa transduction. Par rapport au SARS-CoV-2, le SARS-CoV-1 dispose d'un éventail légèrement plus large dans le choix de son récepteur (Wu et al. 2020)

Un peu plus tard, en mai 2020, des études ont alors essayé de comprendre ces différences de sensibilité en fonction des espèces animales. Nous savons que sur les 20 acides aminés de la protéine ACE2 qui entrent en contact avec la protéine S, 7 peuvent être remplacés sans que l'ACE2 perde sa fonction de récepteur du SARS-CoV-2. Cependant, une modification concernant des résidus invariables empêcherait la liaison avec la protéine S et donc l'infection de l'animal concerné. L'ACE2 du chien présente cinq modifications d'acides aminés concernant ceux en contact avec la protéine S. L'ACE2 du chat ne contient, elle, que quatre modifications, communes à celles de l'ACE2 du chien. Le seul résidu du chien qui n'est pas modifié dans l'ACE2 du chat se trouve au centre de la surface d'interaction. Il est remplacé par un résidu plus grand dans l'ACE2 du chien, qui est toujours capable d'interagir avec les mêmes résidus de la protéine S (Zhai et al. 2020; Stout et al. 2020). Le chien et le chat sont donc toutes deux des espèces sensibles au SARS-COV-2 bien que le chat semble plus sensible que le chien.

Une étude, de juillet 2020, a réalisé un alignement des séquences protéiques de l'ACE2 de nombreuses espèces, ce qui a montré que ni les relations phylogénétiques ni la similarité globale des séquences de la protéine ACE2 entre les espèces ne permettent de prédire la sensibilité exacte des différentes espèces à l'infection par le SARS-CoV-2. Les auteurs ont alors identifié les résidus clés de l'ACE2 qui distinguent les espèces sensibles des espèces résistantes en utilisant des analyses approfondies de la séquence et de la structure de l'ACE2 et de sa liaison au SARS-CoV-2. Cela a démontré que plusieurs positions d'acides aminés dans l'alignement de ACE2 sont très similaires chez les espèces sensibles et très différentes chez les espèces non sensibles. Les différences entre ces résidus ont été utilisées pour générer un score de susceptibilité qui peut aider à prédire les animaux présentant un risque élevé d'infection. Cela a montré un score de susceptibilité de 27 pour le chat et de 22 pour les chiens (Alexander et al. 2020). On note également que d'autres espèces proches de l'homme ont un score de susceptibilité élevé, comme le cheval, par exemple avec un score de 27 également (Figure 8).

	30	83	90	322	354	Susceptibility score
<i>Homo sapiens (Human)</i>	D	Y	N	N	G	-
<i>Macaca mulatta (Rhesus Macaque)</i>	D	Y	N	N	G	31
<i>Felis catus (House cat)</i>	E	Y	N	N	G	27
<i>Panthera tigris altaica (Tiger)</i>	E	Y	N	N	G	27
<i>Panthera leo (Lion)</i>	E	Y	N	N	G	27
<i>Mesocricetus auratus (Golden Syrian Hamster)</i>	D	Y	N	Y	G	23
<i>Mus musculus (Mouse)</i>	N	F	T	H	G	11
<i>Aythya fuligula (Duck)</i>	A	F	D	N	N	8
<i>Gallus gallus (Chicken)</i>	A	F	D	N	N	8
<i>Mustela putorius furo (Ferret)</i>	E	Y	D	N	R	14
<i>Sus scrofa (Pig)</i>	E	Y	T	N	G	21
<i>Canis lupus familiaris (Dog)</i>	E	Y	D	N	G	22
<i>Rhinolophus sinicus (Chinese horseshoe bat)</i>	D	Y	N	N	G	31
<i>Equus caballus (Horse)</i>	E	Y	N	N	G	27
<i>Bos taurus (Cow)</i>	E	Y	N	Y	G	19
<i>Manis javanica (Malayan pangolin)</i>	E	Y	N	K	H	13
<i>Capra hircus (Goat)</i>	E	Y	N	Y	G	19
<i>Ovis aries (Sheep)</i>	E	Y	N	Y	G	19
<i>Camelus dromedarius (Arabian Camel)</i>	E	Y	N	N	G	27
<i>Camelus bactrianus (Bactrian Camel)</i>	E	Y	N	N	G	27

Figure 15 : Résultats des scores de susceptibilité au SARS-CoV-2 en fonction des résidus « clés » de l'ACE2, (Alexander et al. 2020)

Cependant, certaines incohérences sont donc observées si on compare le score de susceptibilité du furet avec la réalité clinique décrite dès mars 2020 (Shi et al. 2020).

Ainsi, pour mieux étudier l'épidémiologie du COVID-19, il s'avère nécessaire de s'intéresser plus amplement à la manière dont nos animaux domestiques y sont sensibles et s'ils jouent un rôle épidémiologique important ou non.

b. Les précédentes études du SARS-CoV-2 chez le chien et le chat

i. *Surveillance virologique du SARS-CoV-2 chez le chat et le chien*

De nombreuses études ont réalisé des analyses PCR afin d'objectiver la présence d'un ARN viral résiduel chez le chat ou le chien. Avec, par exemple, en mai 2020, un premier chat sur le territoire espagnol a présenté une RT-qPCR positive pour le SARS-CoV-2 avec un écouvillon oropharyngé sans présenter aucun signe clinique. Il était le seul sur 23 animaux de compagnie différents alors que tous les propriétaires présentaient des symptômes du COVID-19 allant de légers à sévères (Ruiz-Arrondo et al. 2021). Une nouvelle étude espagnole, en avril 2022, a révélé des animaux (chiens et chats) positifs (10,13%, 8/79) au SARS-Cov-2 par RT-qPCR et plus particulièrement au variant Omicron. Aucun des animaux en question ne présentait de signe clinique et les charges virales détectées étaient très faibles (Sánchez-Morales et al. 2022). Les taux de résultats positifs restaient alors très bas. En novembre 2020, cette fois en France, une étude a montré qu'aucun chien, sur les onze de la cohorte, n'a été testé positif au SARS-CoV-2. Et un seul chat des 22 de la cohorte s'est lui révélé être positif par RT-qPCR sur écouvillon rectal (Sailleau et al. 2020).

Toujours en France, en décembre 2020, une étude concernant 12 chiens et 9 chats appartenant à des étudiants vétérinaires a été réalisée : des écouvillons nasaux et rectaux ont été analysés par RT-qPCR et sont tous revenus négatifs. Pourtant, tous les propriétaires avaient eu un contact avec au moins une personne malade dans les

trois semaines précédant les prélèvements et 11 d'entre eux ont développé des symptômes type du COVID-19 alors que seulement 2 d'entre eux ont révélé avoir eu un test PCR positif au SARS-CoV-2. De plus, le mode de vie des propriétaires laisse penser que les contacts étaient fréquents et durables avec les animaux et qu'ils étaient confinés ensemble dans des appartements n'excédant pas 30m². Cela suggère que le taux de transmission du SARS-CoV-2 entre l'homme et les animaux de compagnie dans des conditions de vie normale est probablement faible (Temmam et al. 2020). Sur ce mois de décembre 2020, une étude texane à elle, au contraire, montrée que 47,1 % (8/17) des chats et 15,3 % (9/59) des chiens provenant de 25,6 % (10/39) des foyers étaient positifs pour le SARS-CoV-2 par RT-qPCR. La majorité des animaux domestiques infectés étaient asymptomatiques. Un chat infecté, prélevé plusieurs fois, a montré la persistance de l'ARN viral au moins 32 jours après le diagnostic humain (25 jours après le test initial concernant le chat) (Hamer et al. 2020).

Enfin toujours en décembre 2020, comme dans d'autres études, le séquençage d'un virus chez un chat et chez son propriétaire, tous deux positifs en PCR, a permis d'objectiver la transmission du virus du propriétaire à l'animal, les séquences étant identiques. L'enquête épidémiologique ayant permis de confirmer une source de contamination hors du foyer pour le propriétaire (Barrs et al. 2020).

Pour en finir avec la surveillance virologique directe, une étude, publiée en avril 2021, de nouveau en France, s'est intéressée à l'excrétion virale quotidienne de cinq chats qui ont été suivis par RT-qPCR sur des prélèvements oro-pharyngés et des prélèvements de l'environnement (gamelle, tapis, ...). Chaque chat était confiné avec ses propriétaires positifs au COVID-19 dans des foyers séparés. De faibles charges d'acide nucléique viral ont été trouvés chez deux chats. Une nouvelle fois, aucun signe clinique n'était rapporté concernant ces chats. L'excrétion virale était faible et transitoire, n'excédant pas deux jours en moyenne, même si elle peut-être, pour des rares cas, prolongée, ce qui laisse penser que, même lorsqu'ils sont infectés, les chats jouent probablement un rôle limité dans l'épidémiologie du COVID-19 (Bessière et al. 2021).

Face à ces résultats, des études plus approfondies sont nécessaires afin de mieux caractériser la place des animaux de compagnie dans l'épidémiologie du COVID-19 en France. Si la recherche directe du virus par RT-qPCR n'est pas toujours évidente, étant donné que l'excrétion virale peut être limitée dans le temps et donc passer inaperçue, les tests sérologiques semblent, eux, permettre de détecter les infections passées et c'est donc plutôt sur ce genre de test que de prochaines études pourraient se baser pour plus d'efficacité ainsi que pour obtenir plus facilement une cohorte plus importante.

ii. Surveillance sérologique du SARS-CoV-2 chez le chat et le chien

Une première étude à Wuhan, en janvier 2020, a montré que 14,7% de 102 sérums de chats prélevés après l'épidémie de COVID-19 étaient positifs pour le domaine de liaison au récepteur (RBD) du SARS-CoV-2 par dosage immunoenzymatique indirect (ELISA) en utilisant le domaine RBD de la protéine S, ce pourcentage étant significativement bien supérieur au pourcentage des chats prélevés avant l'épidémie. De plus, parmi les échantillons positifs, 11 (73% des chats positifs en ELISA et 10,8% de tous les chats) présentaient des anticorps neutralisants du SARS-CoV-2. Cette augmentation de la séroprévalence suit celle décrite chez l'Homme au début de la pandémie. Il semblerait donc que le virus se soit transmis de l'Homme à l'animal et que les chats sont pour la plupart capables de réaliser une séroconversion (Zhang, Zhang, Huang, et al. 2020). Une seconde étude, de septembre 2020, toujours à Wuhan, a montré que sur dix chats (quatre femelles, six mâles) et neuf chiens (quatre femelles, cinq mâles) appartenant à 15 propriétaires différents et déjà infectés par le COVID-19, seuls deux chats et un chien ont présenté des anticorps au SARS-CoV-2 en utilisant les titres d'IgG spécifiques de la sous unité S1 de la protéine spike du SARS-CoV-2 déterminés à l'aide d'un test ELISA. Pour ces trois animaux, la présence d'anticorps neutralisants a bien été confirmée par un test de séroneutralisation (Chen et al. 2020).

Ensuite, différentes études avec des cohortes importantes ont été publiées. En novembre 2020, en Allemagne, deux études ont montré une première séroprévalence de 0.69% (6/920), en novembre 2020, sur des échantillons de sérum félin prélevés au hasard dans toute l'Allemagne et une seconde séroprévalence était de 1,36 % (16/1173) en avril 2021. La présence d'anticorps a été détectée ici par un test ELISA indirect contre le domaine de liaison des récepteurs (RBD). Cette augmentation de la séroprévalence chez les chats est proportionnelle à l'augmentation des cas rapportés dans la population humaine et indique la présence continue d'une transmission trans-espèce des propriétaires infectés à leurs chats (Michelitsch et al. 2020; 2021).

Une enquête sérologique italienne, de juillet 2020, a confirmé une séroprévalence du SARS-CoV-2 plus élevée chez les chats (16,2 % de 68 chats) que chez les chiens (2,3 % de 130 chiens). Mais également que la séroprévalence était plus élevée chez les animaux vivants en contact étroit avec des propriétaires séropositifs pour le SARS-CoV-2, avec un test ELISA basé sur la protéine de la nucléocapside N (Colitti et al. 2021). Une seconde enquête sérologique italienne, de décembre 2020, est venue apporter d'autres résultats avec 3,3 % (15/451) des chiens et 5,8 % (11/191) des chats présentant des titres mesurables d'anticorps neutralisants du SARS-CoV-2 (sur neuf cent dix-neuf animaux testés), les chiens issus de foyers positifs au COVID-19 étant significativement plus susceptibles d'être testés positifs que ceux issus de foyers négatifs au COVID-19 (Patterson et al. 2020).

Une étude anglaise, publiée en juin 2021 a analysé en tout 688 sérums (454 chiens et 234 chats) entre janvier 2020 et février 2021. Tous les sérums prélevés avant le début de la pandémie en janvier 2020 et ceux prélevés au cours de la première vague de cas humains (avril mai 2020) se sont révélés être négatifs. Pour ceux prélevés au moment de la seconde vague (septembre 2020 à février 2021), une séroprévalence de 1,4% (4/286) pour les chiens et de 2,2% (2/90) pour les chats ont été obtenues (Smith et al. 2021).

En Croatie, en juillet 2021, des anticorps neutralisants ont été détectés chez 0,76 % des chats (n = 131) et 0,31% des chiens (n = 646). Alors que le test ELISA avait, lui, obtenu une séroprévalence de 7,56% pour les sérums de chiens testés par exemple (Stevanovic et al. 2021). Il est donc possible que les tests ELISA présentent des défauts de spécificité. Une autre étude française, de décembre 2021, a montré que la séroprévalence obtenue par test ELISA était significativement plus élevée pendant la pandémie [5,5 % (25/453)] que pendant la période prépandémique [1,1 % (5/449)] chez le chien cette fois (Laidoudi et al. 2021).

En Pologne, en décembre 2021, une étude a, elle, obtenu 1,79 % de séroprévalence au SARS-CoV-2 pour les chats (5/279) et 1,17 % pour les chiens (4/343) par test ELISA. Aucune différence significative de sexe ou d'âge dans la séroprévalence chez les chiens et les chats n'a été constatée. Aucun des animaux présentant des anticorps anti-SARS-CoV-2 ne présentait de signes respiratoires ou gastro-intestinaux au moment du prélèvement. Vingt-neuf lapins ont également été testés, mais tous se sont révélés être négatifs (Pomorska-Mól et al. 2021).

Enfin, en Thaïlande, en janvier 2022, une étude a montré que tous les animaux testés étaient négatifs pour l'ARN du SARS-CoV-2 par RT-qPCR et pourtant 3,14 % (5/159) avaient des anticorps anti-N-IgG contre le SARS-CoV-2, objectivés par séroneutralisation (Jairak et al. 2022). Cela appuie bien l'importance des études sérologiques afin de diagnostiquer des infections passées. Au Portugal, en février 2022, des prévalences bien plus élevées ont été obtenues, avec des anticorps contre le SARS-CoV-2 détectés chez 21,74 % des chats (15/69) et chez 4,73 % des chiens (7/148) par un test ELISA qui détecte des anticorps IgG contre la protéine RBD du SARS-CoV-2 (Barroso et al. 2022).

Les différentes séroprévalences retrouvées (Tableau 2) varient en fonction de la localisation et de la date de prélèvement. En moyenne, les chats semblent tout de même plus sensibles. Les vagues d'infection dans la population humaine semblent fortement influencer également la séroprévalence du chien et du chat. Au vu de ces faibles prévalences, il semblerait que les animaux de compagnie ne constituent probablement pas un réservoir majeur du SARS-CoV-2 pouvant expliquer les infections humaines. Cependant, une surveillance continue des animaux sensibles en contact doit être effectuée dans le cadre des initiatives de surveillance continue de la santé de la population.

Pays	Chine	Allemagne		Italie				Angleterre	
Dates	Janv-20	Nov-20	Avr-21	Juil-20		Déc-20		Juin-21	
Animaux	Chat	Chat	Chat	Chat	Chien	Chat	Chien	Chat	Chien
Séroprévalence ELISA	14,70%	0.69%	1,36%	16,20%	2,30%				
Séroprévalence SN	10,80%					5,80%	3,30%	2,2	1,40%

Pays	Croatie		France	Pologne		Thaïlande	Portugal	
Dates	Juil-21		Déc-21	Déc-21		Janv-22	Février 2022	
Animaux	Chat	Chien	Chien	Chat	Chien	Chat/Chien	Chat	Chien
Séroprévalence ELISA		7,56%	5,50%	1,79%	1,17%		21,74%	4,73%
Séroprévalence SN	0,76%	0,31				3,14%		

Tableau 2 : Résumé des différentes séroprévalences du SARS-CoV-2 chez le chien et le chat dans différents pays

Pour finir, de nombreuses études ayant des animaux positifs par PCR, ne présentaient pour autant aucun anticorps (Temmam et al. 2020 ; Sánchez-Morales et al. 2022). Bien que l'étude sérologique soit un moyen de diagnostiquer les infections passées elle ne permet pas d'objectiver les infections trop précoces.

iii. Les informations des différentes publications sur la cinétique des anticorps chez le chat ou le chien

Ces études ont montré chez les chats ayant présenté une séroconversion, une diminution du taux d'anticorps détecté par ELISA dès 10 jours après la première détection avant que ce taux soit indétectable aux alentours de 110 jours (Zhang, Zhang, Gao, et al. 2020). De même, pour les anticorps neutralisants, la diminution semble commencer également 10 jours après la première détection pour ensuite diminuer drastiquement en un mois (Figure 9). Ces informations doivent être prise en compte lors des études futures sur la séroconversion du SARS-CoV-2.

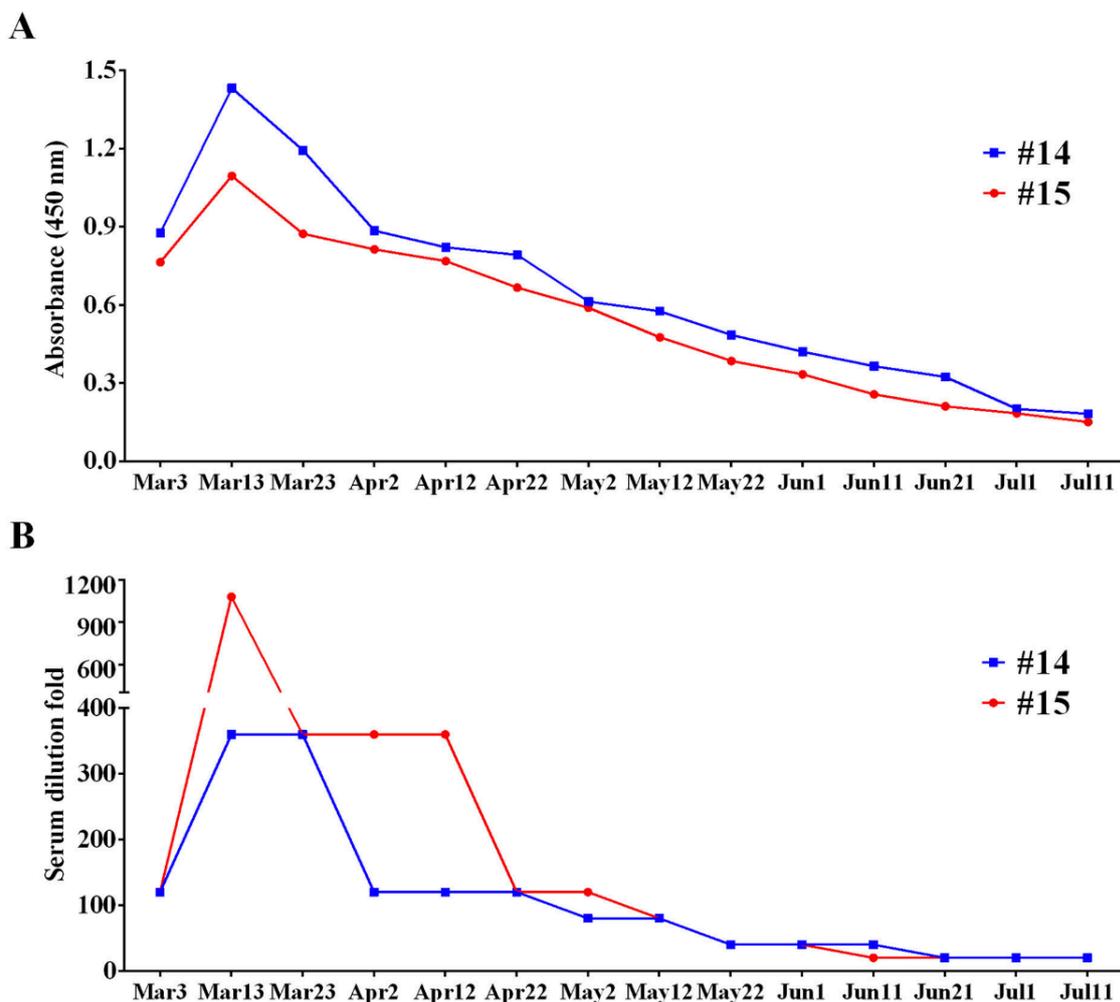


Figure 16 : Cinétique des anticorps révélée par (A) ELISA et par (B) séroneutralisation pour deux chats (Zhang, Zhang, Huang, et al. 2020)

Dans l'étude texane, des anticorps ont été révélés 93 jours au maximum après le diagnostic établi pour les propriétaires (Hamer et al. 2020).

iv. *La question des signes cliniques liés au SARS-CoV-2 chez les animaux*

Quelques rares études semblent présenter des animaux avec des signes cliniques dus à l'infection par le SARS-CoV-2. Une étude italienne révèle qu'un chat domestique présentant des signes cliniques clairs de pneumonie, confirmée par imagerie radiographique, avait obtenu une RT-qPCR positive sur écouvillon nasal au SARS-CoV-2. Le chat présentait une dyspnée sévère, du ptyalisme et une discordance marquée (Musso et al. 2020). De même, une étude belge décrit le cas d'un chat infecté par le virus SARS-CoV-2 (excrété par son propriétaire) et souffrant d'une atteinte respiratoire, avec une séroconversion associée (Garigliany et al. 2020). Cependant, la présence du SARS-CoV-2 dans l'écouvillon nasal n'est pas suffisante pour affirmer que ce virus soit responsable des signes cliniques rapportés (Rothman, Greenland 2005). De plus, il s'agissait de deux chats âgés pour lesquels toutes les autres causes potentielles d'affection respiratoire n'ont pas été totalement écartées. Étant donné que le nombre d'animaux ayant été symptomatiques suite à une infection par le SARS-CoV-2 est très faible, il est difficile de savoir si ces deux chats ont réellement développé des signes cliniques suite à cette infection ou si ces signes cliniques seraient liés à leurs possibles autres comorbidités non détectées.

De même, aux États-Unis, une étude, en avril 2020, a également suggéré un lien entre une infection par le SARS-CoV-2 et la présence de signes cliniques. L'équipe de recherche a mis en avant deux chats domestiques atteints de maladie respiratoire (les signes cliniques étant éternuements, toux, écoulement nasal et oculaire aqueux, perte d'appétit et léthargie) pendant 8 et 10 jours, qui étaient positifs au SARS-CoV-2 par RT-qPCR. Les deux chats appartenaient à des personnes présentant une suspicion pour l'un et une confirmation de COVID-19 pour l'autre, et les deux chats se sont complètement rétablis (Newman et al. 2020). Un des deux chats étant positif à *Mycoplasma felis*, il paraît peu probable que le SARS-CoV-2 soit réellement responsable des signes cliniques rapportés. Pour le second chat, il a vu son état s'améliorer rapidement à l'aide d'un traitement antibiotique, donc, ici aussi incriminer le SARS-CoV-2 semble un peu précipité.

Au vu des résultats présentés dans les études à grande cohorte, le risque d'observer des signes cliniques liés au SARS-CoV-2 seul chez les animaux semble très peu probable, voire inenvisageable pour les chiens.(Zhang, Zhang, Gao, et al. 2020 ; Laidoudi et al. 2021 ; Smith et al. 2021 ; Michelitsch et al. 2021 ; Patterson et al. 2020 ; Pomorska-Mól et al. 2021 ; Barroso et al. 2022 ; Stevanovic et al. 2021).

Certaines études viennent confirmer que la transmission intra-espèce chez le chat est possible et que ces chats contaminés par contact peuvent également produire des anticorps neutralisants du SARS-CoV-2 (Halfmann et al. 2020).

Ces différentes études montrent bien la sensibilité du chien et du chat au virus du SARS-CoV-2. Les séroprévalences décrites ne sont pas très importantes, sans pour autant être négligeables et le chat semble plus sensible que le chien. La séroconversion a bien lieu pour ces deux espèces, mais les animaux infectés ne semblent pas déclarer de signes cliniques pour la plus grande majorité. La transmission intra espèce semblerait plus évidente chez le chat que chez le chien. Les tests ELISA semblent plus sensibles, mais moins spécifiques que la séroneutralisation. Enfin, au-delà de 130 jours les anticorps ne seraient plus détectables dans le sérum.

II. Hypothèses et objectifs

1. Objectifs

Dans cette étude, le principal objectif est d'aider à définir une séroprévalence du SARS-CoV-2 chez le chat et le chien en France. En plus, il nous paraissait intéressant d'essayer d'estimer les facteurs de risque, comme la proximité avec un propriétaire positif au SARS-CoV-2, le contact avec d'autres animaux ou le sexe de l'animal. La présence ou l'absence de signes cliniques était également une question soulevée par notre étude. Dans un deuxième temps, nous voulions également comparer deux méthodes de diagnostic sérologique : un test immuno-enzymatique (ELISA) et un test d'hémagglutination en utilisant la séroneutralisation comme gold standard. Cette étude avait également pour objectif d'être à l'origine d'une publication scientifique, cette dernière étant disponible depuis mai 2022 (Bessière et al. 2022).

2. Hypothèses

Nous nous attendions à avoir des séroprévalences similaires à celles décrites précédemment. En effet, nous attendions une séroprévalence chez les chats bien supérieure à celle chez les chiens, mais aussi une absence de signe clinique concernant les chats séropositifs. Nous pensions aussi mettre en avant que la présence d'un propriétaire positif dans le foyer, ainsi que le contact avec d'autres animaux, seraient des facteurs de risque de séropositivité au SARS-CoV-2. Enfin, nous nous attendions à n'avoir aucun animal séropositif dans les 7 jours suivant l'exposition potentielle au SARS-CoV-2 ainsi qu'au-delà des 130 jours suivant cette exposition.

III. Matériels et méthodes

1. Éthique

Les expériences sur les animaux ont été approuvées par le comité d'éthique de Sciences et Santé Animales (SSA-Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse) N°115 (Approval No. SSA_2020_010). Un consentement écrit des propriétaires des animaux de compagnie a été obtenu avant le début de l'étude.

2. Échantillonnage et questionnaire

L'enquête a été menée de manière prospective lors de visites de soins dans des cliniques vétérinaires ou du centre hospitalier universitaire vétérinaire de Toulouse entre mars 2020 et décembre 2021 sur l'ensemble de la France métropolitaine. De plus, un recrutement important concernant les étudiants, de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse, propriétaires de chien ou de chat, a eu lieu. Les informations sur chaque animal échantillonné ont été enregistrées par le vétérinaire, et comprenaient la signalisation de l'animal (espèce, race, âge et sexe), son mode de vie (intérieur/extérieur et temps passé à l'extérieur), son contact avec d'autres animaux de compagnie, la survenue de signes cliniques évocateurs d'une infection par le SARS-CoV-2 (anorexie, hyperthermie, léthargie, gingivite, polyadénite, diarrhée, stomatite, bronchopneumonie, toux et/ou autre), et la proximité entre l'animal et son propriétaire (câlins, jeux ou toilettes fréquents). Des informations concernant les propriétaires ont également été retenues, telles que la survenue d'un épisode de COVID-19 dans le foyer et, le cas échéant, la gravité des symptômes du propriétaire. De plus, si le propriétaire avait déjà eu un test positif au COVID-19 cela était notifié avec la date de ce résultat, et les données ont été saisies en ligne sur une plateforme dédiée permettant la pseudonymisation. Les échantillons de sang ont été prélevés par ponction veineuse standard et le sérum a été recueilli par centrifugation, et conservé à -20 °C jusqu'aux analyses.

3. Le test d'hémagglutination

Le test d'hémagglutination, ou test HA, utilisé pour cette étude avait pour objectif la détection d'anticorps dirigés contre le domaine de liaison au récepteur (RBD) de la protéine spike du SARS-CoV-2. Le test a été réalisé dans des plaques à 96 puits, avec 50 μ L de réactif IH4-RBD (2 μ g/mL) déjà décrit précédemment, 1 μ L de sérum non dilué des animaux et 1 μ L de globules rouges humains provenant d'un donneur O négatif dilué à 30 % v/v dans du PBS. Pour détecter les sérums xénoréactifs (c'est-à-dire les sérums responsables d'une agglutination avec le sang humain en l'absence du réactif IH4-RBD) pour chaque échantillon, un contrôle négatif a été réalisé en utilisant du PBS (Phosphate-Buffered Saline, le tampon phosphate salin) au lieu du réactif IH4-RBD. Le sérum félin d'une expérience précédente présentant des anticorps anti-SARS-CoV-2 a été utilisé comme contrôle positif. Les plaques ont été incubées pendant 1h à température ambiante et brièvement centrifugées (3min, 1000rpm). Ensuite, elles ont été inclinées pour détecter la présence d'une agglutination indiquant une réaction positive.

4. Le test ELISA

Le statut sérologique des animaux a été évalué à l'aide d'un kit commercial de dosage immuno-enzymatique (ELISA) à double antigène du SARS-CoV-2, conformément aux instructions du fabricant (ID Screen® SARS-CoV-2 Double Antigen Multi-species ELISA, ID.vet, Grabels, France). Ce kit de diagnostic permet de mettre en évidence la présence d'anticorps dirigés contre la nucléocapside (protéine N) du virus SARS-CoV-2 pour le chien, le chat ou d'autres espèces animales avec une spécificité comprise entre 97,8 % et 100 %, comme indiqué par le fabricant. Les anticorps spécifiques anti-SARS-CoV-2, s'ils sont présents, forment un complexe antigène-anticorps. Après un lavage, le conjugué (un antigène recombinant purifié de la protéine N marqué par la peroxydase) est rajouté. Il se fixe alors aux domaines Fab restés libres des anticorps anti-SARS-CoV-2 sériques. Un nouveau lavage est réalisé afin d'éliminer l'excès de conjugué non fixé. Pour finir, la manipulation se termine par l'utilisation d'une solution de révélation (TMB). En présence d'anticorps dans l'échantillon, il apparaît une coloration bleue qui devient jaune après blocage avec la

solution d'arrêt. La densité optique de chaque puits est ensuite lue à 450 nm. Suite à la réalisation d'une plaque, il est important de vérifier que la densité optique moyenne des contrôles positifs (DO_{CP}) est bien supérieure à 0,350. Mais, également que le rapport DO_{CP} sur densité optique moyenne des contrôles négatifs (DO_{CN}) est bien supérieur à trois. Si ces règles ne sont pas respectées alors le test est ininterprétable il est alors conseillé de recommencer. Enfin pour chaque échantillon il faut calculer le rapport S/P% :

$$S/P \% = \frac{DO_{\text{échantillon}} - DO_{CN}}{DO_{CP} - DO_{CN}} \times 100$$

Si S/P% est inférieur à 50 %, alors l'échantillon est considéré comme négatif, s'il est compris entre 50 % et 60 %, il est considéré comme douteux, et enfin, s'il est supérieur à 60 % alors, il est considéré comme positif.

5. La séroneutralisation

Dans cette étude, les cellules Vero-E6 ont été placées dans des plaques 96 et cultivées dans du DMEM complété par 10% de sérum foetal bovin inactivé à la chaleur et 1% de pénicilline-streptomycine à 37°C et avec 5% de CO₂. Les échantillons et les contrôles ont été inactivés par la chaleur à 56°C pendant 30 min, dilués en série dans du DMEM à partir d'une dilution à un dixième, mélangés avec 100 TCID₅₀ de SARS-CoV-2 (préalablement amplifié et titré sur des cellules Vero-E6), incubés pendant 2 h à 37°C, et transférés sur une plaque de culture. Après une incubation d'une heure à 37°C, les dilutions virus-sérum ont été retirées, et les cellules ont été lavées avec du PBS. Les cellules ont été incubées dans un milieu de croissance (DMEM complété par 2 % de sérum foetal bovin inactivé à la chaleur et 1 % de pénicilline-streptomycine) pendant 72 h à 37°C et à 5 % de CO₂ et ont été observées au microscope pour détecter la présence d'effets cytopathiques. Le sérum d'une souris immunisée contre

le SARS-CoV-2 (aimablement fourni par JC. Guéry) a été utilisé comme contrôle positif. Le PBS a été utilisé comme contrôle négatif. Les expériences ont été réalisées dans une installation de biosécurité de niveau 3 à l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse. Lors de la lecture des résultats, c'est l'absence d'effet cytopathogène du virus sur les cellules qui confirme la présence d'anticorps neutralisants.

6. L'analyse statistique

Une analyse univariable entre les résultats des tests sérologiques et toutes les variables de risque possibles a été testée en utilisant un test de Chi² ou un test de Fisher, en fonction des effectifs théoriques calculés, pour tous les animaux ensemble et pour les chats et les chiens séparément. Une régression logistique multivariable sur le statut sérologique a également été effectuée en utilisant à la fois l'espèce et l'occurrence antérieure d'un épisode de COVID-19 dans le foyer comme variables explicatives, car ces deux variables constituent l'objet principal de l'analyse. Un test de student a été utilisé pour analyser la potentielle influence du délai entre l'exposition au SARS-CoV-2 et la séroprévalence pour les animaux considérés comme exposés.

IV. Résultats

1. Le nombre de prélèvements

Trois cent-quatorze sérums ont été collectés entre mars 2020 et décembre 2021. Après l'exclusion de six chats à la suite de questionnaires non remplis correctement, trois cent huit animaux ont été inclus dans l'étude dont cent soixante-cinq chiens et cent quarante-trois chats de différentes régions françaises (Figure 17).

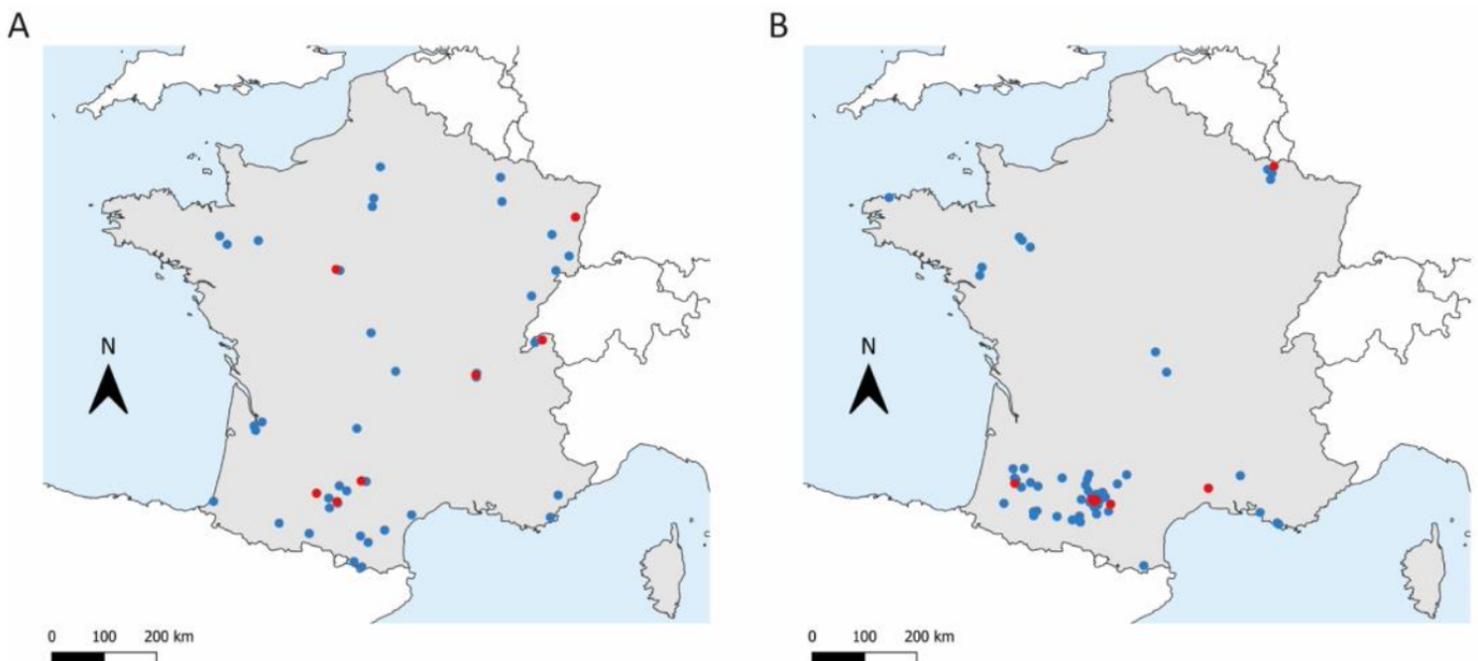


Figure 17 : Distribution spatiale des lieux de prélèvement des échantillons félines (A) et canins (B). Les points bleus indiquant les échantillons négatifs pour les anticorps anti-SARS-CoV-2. Les points rouges indiquant les échantillons positifs (Bessière et al. 2022)

2. Le résultat des tests sérologiques

Les sérums ont d'abord été analysés à l'aide de deux techniques : ELISA et HAT. La positivité des échantillons a ensuite été confirmée par un test de séroneutralisation du virus (Tableau 1).

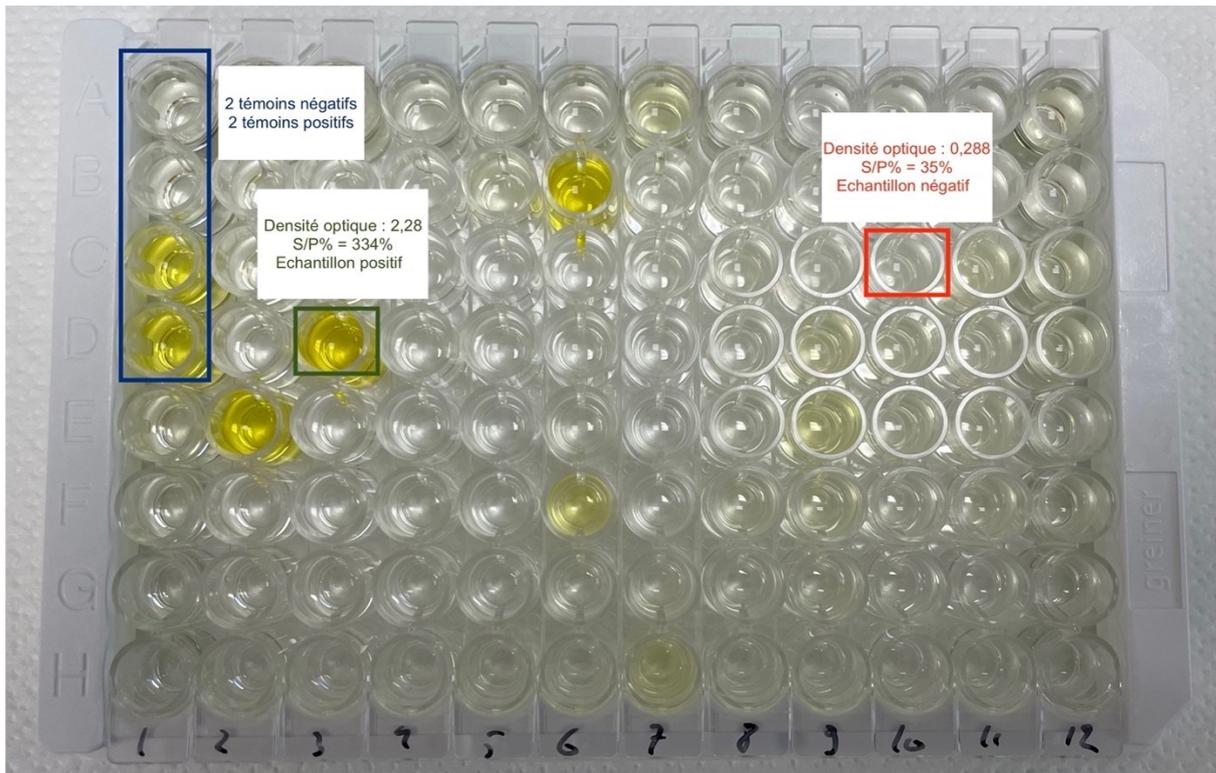


Figure 18 : Plaque de lecture du test sérologique ELISA (ID Screen® SARS-CoV-2 Double Antigen Multi-species ELISA, ID.vet, Grabels, France), (Travail personnel)

Pour ce qui concerne les tests ELISA, les échantillons positifs se colorent en jaune après l'ajout de la solution de révélation (Figure 18). Cependant, certains échantillons semblent se colorer, mais, après la mesure de la densité optique et le calcul du rapport S/P, ils se révèlent être bien négatifs. Les quatre premiers puits en haut à gauche sont deux témoins positifs et deux témoins négatifs et permettent donc de calculer le rapport S/P. Finalement, seul 11 sérums sur les 308 testés se sont révélés positifs par ce test ELISA.

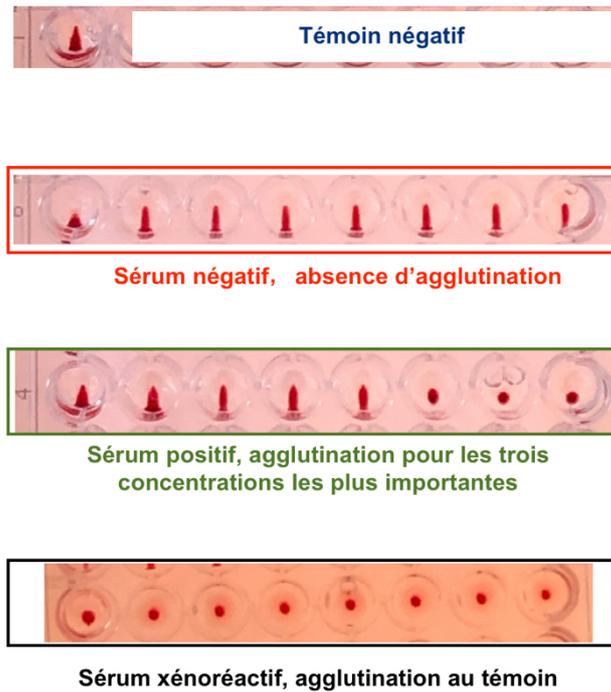


Figure 19 : Plaque de lecture du test HAT, Un sérum positif, négatif, ainsi qu'un sérum xénoréactif sont présents (Travail personnel)

Pour les tests HA, la première colonne des plaques représente le témoin négatif (Figure 19). Si ce premier puits présente de l'agglutination et non une larme comme il devrait, le sérum est donc considéré comme xénoréactif et la sérologie est alors ininterprétable. Les sérums xénoréactifs ont été considérés comme ininterprétables pour notre étude. Lorsque le témoin est bien négatif, on regarde alors la colonne la plus à gauche (celle où la dilution du sérum est la plus faible) afin de voir s'il y a une agglutination qui confirme la présence d'anticorps dirigés contre la séquence RBD de la protéine Spike, dans le sérum en question. On regarde enfin la dilution du sérum la plus importante (de droite à gauche) pour laquelle on observe une agglutination. Pour ce test, 50 sérums étaient positifs sur les 308 testés. On note également que pour la lecture de ces tests, le biais de lecture et d'interprétation de l'opérateur est bien plus important que pour le test ELISA.

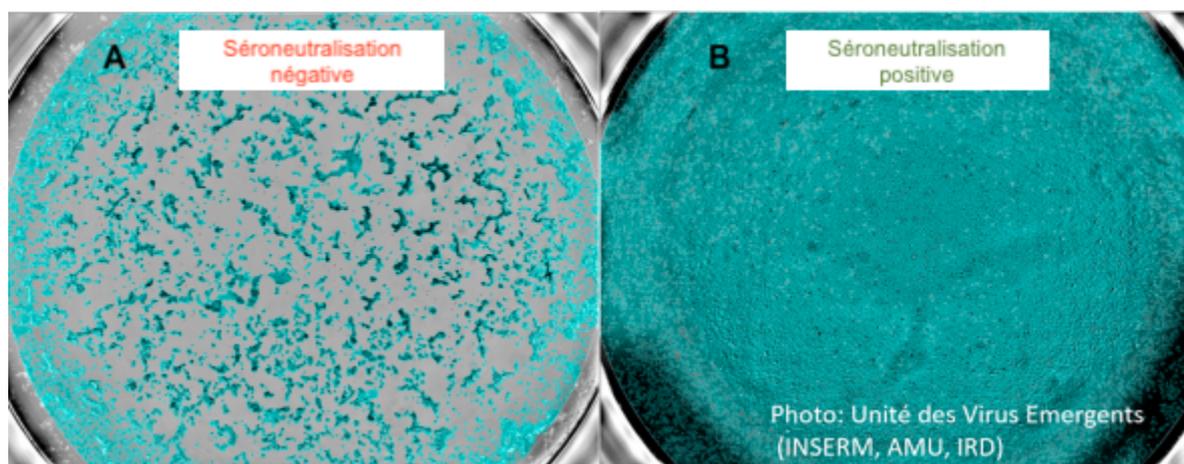


Figure 20 : Lecture des tests de séroneutralisation, **A** : Test de séroneutralisation négatif, destruction du tapis cellulaire par multiplication virale, **B** : Test de séroneutralisation positif, virus neutralisé, tapis cellulaire intact, (Carrat et al. 2020)

Enfin, la séroneutralisation, après lecture sous microscope permet de connaître la dilution de sérum pour laquelle le virus est bien neutralisé et donc pour laquelle on retrouve un tapis cellulaire intact. En cas d'absence d'anticorps neutralisant, pour toutes les dilutions du sérum le tapis cellulaire sera identique à celui du tapis cellulaire du témoin négatif (Figure 20). Une image d'archive a été utilisée car il nous était impossible de prendre une photo dans le laboratoire NBS-3 de l'école nationale vétérinaire de Toulouse.

Après la lecture de ces différents tests (Tableau 2), 29 chiens (17,6% 29/165) sont revenus positifs au test HA, 2 chiens (1,21%, 2/165) étaient positifs par test ELISA et 9 (5,5% 9/165) étaient positifs à la séroneutralisation. Pour les chats, 21 (14,7% 21/143) sont revenus positifs au test HA, 9 (6,29%, 9/143) étaient positifs par test ELISA et 12 (8,4% 12/143) étaient positifs à la séroneutralisation. Les 11 sérums (deux chiens et neuf chats) positifs en ELISA sont également revenus positifs en séroneutralisation. Cependant, 3 échantillons félines (2,1%, 3/143) et 7 échantillons canins (4,2 %, 7/165) étaient positifs au test HA et négatifs au test ELISA, mais bien positifs à la séroneutralisation. Mais, 9 sérums de chats (6,3%, 9/143) et 20 sérums de chiens (12,1%, 20/165) sont revenus positifs au test HA mais négatifs en séroneutralisation. D'autre part, un nombre non négligeable de sérums (6,8 %,

21/308), provenant de 16 chats et de 5 chiens, contenaient des anticorps xénoréactifs, provoquant une hémagglutination dans le contrôle négatif HA, et se sont tous révélés négatifs par séroneutralisation.

Test sérologique	HA		ELISA		Séroneutralisation		Total
Statut sérologique	+	-	+	-	+	-	
Chiens	29	136	2	163	9	156	165
Chats	21	122	9	134	12	131	143
Total	50	258	11	297	21	287	308

Tableau 3 : Résultats obtenus avec les différents tests sérologiques

Afin d'étudier les facteurs de risques, les sérums ont été considérés comme positifs uniquement si le test de séroneutralisation du virus était positif. Des anticorps neutralisants du SARS-CoV-2 ont donc été détectés chez 12 chats (8,4 %, 12/143) et 9 chiens (5,4 %, 9/165).

3. L'étude statistique

		Serological Status for All Pets		p-Value *	Serological Status for Dogs		p-Value **	Serological Status for Cats		p-Value **
		Positive	Negative		Positive	Negative		Positive	Negative	
Species (n = 308)	dog cat	9 12	156 131	0.42						
Relationship pet-owner (n = 305)	close distant	16 5	199 85	0.73	5 4	95 61	0.74	11 1	104 24	0.69
COVID-19 episode in the household (n = 308)	yes no	14 7	165 122	0.55	6 3	77 79	0.50	8 4	88 43	1
Severity of the COVID-19 episode (n = 308)	serious mild none	4 10 7	27 138 122	0.34 ***	2 4 3	8 69 79	0.11	2 6 4	19 69 43	1
COVID-19 owner test (n = 292)	positive negative no test	11 3 6	121 29 122	0.40 *	6 0 3	65 9 82	0.41	5 3 3	56 20 40	0.71

* Chi-square test. ** Fisher's exact test. *** A Fisher's exact test was used instead of the chi-squared test because at least one of the expected numbers was less than 5.

Tableau 4 : Informations détaillées sur le statut sérologique des chiens et des chats ainsi que sur les facteurs de risque dans le ménage, utilisées dans l'analyse statistique univariable, (Bessière et al. 2022)

Afin de faciliter cette analyse statistique, la relation entre l'animal et le propriétaire a été qualifiée soit de proche (close) soit de distante (distant). La sévérité de l'épisode du SARS-CoV-2 dans le foyer a été qualifiée de grave (serious), de légère (mild) ou d'absente (none). Le tableau 3 présente les résultats exposés dans la publication parue en mai 2022 (Bessière et al. 2022). Dans l'analyse univariable, aucune des variables prédictives testées n'était significativement associée au statut sérologique des animaux. Par exemple, si l'on s'intéresse au potentiel facteur de risque « Épisode de SARS-CoV-2 dans le foyer » 14 animaux sur les 179 considérés comme exposés à ce facteur étaient positifs et 7 animaux non exposés sur les 122 l'étaient également. Le test de Chi² a alors donné une valeur p de 0,55 ce qui indique que cette différence est non significative. Cependant, dans la régression logistique multivariable, l'odds ratio (OR, il s'agit du degré de dépendance entre des variables aléatoires qualitatives et il permet de mesurer l'effet d'un facteur) d'être séropositif pour les chats, par rapport aux chiens, a été estimé à 1,51 (intervalle de confiance à 95 % : 0,61-3,84). De même, l'odds ratio d'être séropositif pour les animaux de compagnie provenant d'un foyer ayant connu un épisode antérieur de COVID-19, par rapport aux animaux de compagnie provenant d'un foyer sans épisode antérieur de COVID-19, a été estimé à 1,38 (IC à 95 % : 0,55-3,77).

Au vu des résultats des précédentes études, d'autres potentiels facteurs de risques ont été analysés statistiquement (Tableau 4). Nous nous sommes tout d'abord questionnés sur l'influence du sexe de l'animal sur la séropositivité. En effet, 6,9% (10/145) des mâles sont revenu positifs au SARS-CoV-2 alors que 7,4% (11/147) des femelles le sont aussi. Finalement, dans notre étude, le sexe de l'animal n'influence pas statistiquement la présence d'anticorps au SARS-CoV-2. Il en est de même pour le contact fréquent avec d'autres animaux, avec une valeur p quasiment de 1, avec un test de Fisher, quand on considère les chiens et les chats ensemble. De même, l'accès à l'extérieur pour les chats, la durée de la promenade pour les chiens obtiennent des valeur p largement supérieure à 0,05.

		Statut sérologique de tous les animaux		p-Value	Statut sérologique de tous les chiens		p-Value	Statut sérologique de tous les chats		p-Value
		+	-		+	-		+	-	
Sexe	Mâle	10	145	0,80*	2	72	0,30**	8	73	0,40*
	Femelle	11	147		7	85		4	62	
Contact avec d'autres animaux	Oui	14	232	0,99**	7	136	0,32**	7	96	0,49**
	Non	6	53		2	19		4	34	
Accès à l'extérieur	Oui							5	85	0,21**
	Non									
Durée des promenades	Courtes (< 5h/j)				8	94	0,16**			
	Longues (> 5h/j)				1	53				
Délais entre exposition	< 100 jours	4	68	0,99**	1	24	0,64**	3	44	0,18**
	> 100 jours	7	68		4	34		3	34	

*Test de Chi2, **Test de Fisher

Tableau 5 : Complément de l'étude univariante afin de recherche des potentiels facteurs de risques, (Travail personnel)

Pour finir, nous nous sommes intéressés à l'influence du délai entre l'exposition potentielle et la date du prélèvement sanguin. La date d'exposition étant représentée par la date du test positif du propriétaire ou la date du début des symptômes évoquant le SARS-CoV-2 dans le foyer. Pour cette analyse, seuls les animaux dont ces dates étaient connues ont été utilisés. Pour cela une limite, au 100^{ième} jours, a été sélectionnée au vu de la cinétique des anticorps décrits précédemment. Cela n'a pas permis d'objectiver l'influence de ce délai sur la séropositivité.

V. Discussion

Pour commencer, notre étude a permis de confirmer que, bien que non systématique, la transmission du SARS-CoV-2 de l'homme aux carnivores domestiques est loin d'être rare. En effet, des séroprévalences de 5,5% pour les chiens et de 8,4% pour les chats sont obtenues. Comme dans toutes les études décrites précédemment, la séroprévalence semble plus élevée chez le chat, bien que statistiquement cette différence ne soit pas significative. Cependant, la régression logistique multivariable semble indiquer une tendance où le chat serait bien plus sensible au SARS-CoV-2 que le chien. Il est tout à fait possible que la taille de l'échantillon soit trop faible pour révéler une réelle différence significative.

De plus, que les propriétaires aient ou non contracté le COVID-19 n'était pas associé, de manière statistiquement significative, au statut sérologique des animaux, contrairement aux résultats d'une étude à grande échelle déjà évoquée (Patterson et al. 2020). Deux hypothèses sont alors possibles : il est envisageable que le risque de contamination des animaux domestiques hors du foyer est important ou qu'à nouveau la taille de l'échantillon n'est pas assez importante pour révéler une différence significative. Une nouvelle fois, la régression logistique montre tout de même une tendance qui semble confirmer une cohorte trop peu importante pour réellement mettre en avant une différence significative.

Enfin, les autres facteurs de risque étudiés, comme le sexe, le contact avec d'autres animaux ou encore l'accès et le temps passé à l'extérieur, ne montrent pas d'influence sur le statut sérologique des animaux. A nouveau, l'analyse multivariable semble décrire une tendance avec un odds ratio de 4.48 (IC à 95% : 0.6 ; 203.7) pour les chiens passant plus de 4h par jour dehors, par rapport aux chiens qui, eux, sortent moins. Il est envisageable que les chiens qui passent plus de temps à l'extérieur soient en partie protégés en se tenant plus fréquemment à distance du foyer de contamination le plus fréquent, le domicile.

On note une grande diversité dans les différentes séroprévalences rapportées en Europe avec certaines très basses (< 2%) et d'autres plus élevées (> 5%) (Michelitsch

et al. 2021; Patterson et al. 2020; Smith et al. 2021; Stevanovic et al. 2021). Ces différences peuvent, entre autres, s'expliquer par la situation géographique, le nombre de cas rapportés chez l'homme et la façon dont les animaux ont été inclus dans l'étude. De plus, comme certains coronavirus sont endémiques chez les animaux de compagnie, on peut se demander si des infections antérieures à l'émergence du SARS-CoV-2 pourraient être à l'origine de faux positifs en fonction de la cible des anticorps choisie. Cependant, il n'y a pas de réactivité croisée objectivée entre les anticorps neutralisants induits par l'infection par le SARS-CoV-2 et ceux induits par les infections par les coronavirus canins et félins (Smith et al. 2021). De plus, un nombre important de sérums ayant été collectés dans le sud-ouest du pays (région Occitanie), on peut se demander dans quelle mesure cela introduit un biais dans notre analyse. De même, de nombreux animaux prélevés dans cette région appartiennent à des vétérinaires, ou plus particulièrement, des étudiants vétérinaires, il est donc évident de se questionner sur l'influence de cette information sur les séroprévalences obtenues. En effet, ces propriétaires ont un solide socle de connaissances en infectiologie, ce qui peut potentiellement influencer les résultats, en fonction de l'hygiène de vie et des habitudes quotidiennes.

Le second objectif de cette étude était de comparer le test d'hémagglutination conçu par l'équipe d'Alain Townsend (Townsend et al. 2020), au test ELISA, utilisé plus fréquemment pour la détection d'anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2. En se basant sur nos résultats de séroneutralisation, la sensibilité du test HAT semble être de 100% chez les chiens ainsi que chez les chats, mais la spécificité est, elle, de 87% chez le chien et de 93% chez le chat. Pour ce qui concerne le test ELISA, c'est sa spécificité qui est de 100% pour les chiens et les chats alors que la sensibilité pour le chien ne s'élève qu'à 22% et à 75% pour les chats. Il semble évident qu'un nombre de test bien plus important soit nécessaire afin de préciser ces sensibilités et ces spécificités. Le test d'hémagglutination semble donc avoir une mauvaise spécificité. Le résultat des tests HAT est forcément influencé par le biais de lecture, ce qui peut faire varier la sensibilité et la spécificité de manière non négligeable en fonction du manipulateur. Enfin la, réaction xénoréactive d'un nombre non négligeable de sérum vient compliquer l'interprétation de ces résultats. Ici les sérums xénoréactifs ont été considérés comme ininterprétables et ils se sont tous révélés être négatifs par séroneutralisation, mais il serait intéressant de tester un nombre plus important de

sérums xénoréactifs par séroneutralisation afin de vérifier qu'il ne s'agisse pas ici d'un pur hasard dans notre étude et qu'une réaction xénoréactive pourrait empêcher l'interprétation d'un résultat potentiellement positif. Le test ELISA, lui, présente une très bonne spécificité, n'entraînant aucun faux négatif, dans notre étude, mais sa sensibilité semble très basse, surtout concernant les sérums canins. Il faudrait confirmer ces pourcentages, car si la sensibilité s'avère être si basse pour ce test ELISA, cela vient remettre en question certaines conclusions des études réalisées auparavant. Une équipe de recherche a récemment présenté au douzième congrès européen de virologie vétérinaire (ESVV), en Belgique, une étude expliquant qu'ils écartent les résultats obtenus, avec le kit ELISA utilisé dans notre étude, du fait de sa mauvaise sensibilité (Moreno et al. 2022).

Finalement, le test HAT est peu coûteux, rapide et facile à utiliser et, d'après nos résultats, plus sensible que le test ELISA. Malgré ces avantages, nous ne recommandons pas son utilisation pour les échantillons de chiens et de chats en raison de la forte proportion de sérums contenant des anticorps xénoréactifs (6,8 %), ce qui rend le test peu concluant.

Pour finir, il a été démontré que le SARS-CoV-2 circule dans les populations canines et félines, mais sa circulation semble trop faible pour que les animaux domestiques puissent servir de réservoir viral. Néanmoins, la circulation virale doit être surveillée, car il ne peut être exclu que des variants (tels que des variants échappant au système immunitaire) puissent apparaître chez les carnivores domestiques.

D'autant plus que nous savons aujourd'hui que le SARS-CoV-2 peut toucher certaines populations animales et circuler indépendamment de toute présence humaine, comme par exemple chez le cerf à queue blanche (*Odocoileus virginianus*), le cervidé prédominant en Amérique du Nord (Kuchipudi et al. 2021) et il en est de même chez les visons américains d'élevage (*Neovison visoncela*) (Strang et al. 2022). Des variants du SARS-CoV-2 sont apparus dans ses populations. Ces résultats soulignent le besoin urgent d'une approche "One Health" robuste et proactive pour mieux comprendre l'écologie et l'évolution du SARS-CoV-2.

Bibliographie

AHMED, Syed Faraz, QUADEER, Ahmed A. et MCKAY, Matthew R., 2020. Preliminary Identification of Potential Vaccine Targets for the COVID-19 Coronavirus (SARS-CoV-2) Based on SARS-CoV Immunological Studies. *Viruses*. 25 février 2020. Vol. 12, n° 3, pp. 254. DOI 10.3390/v12030254.

ALEXANDER, Mr, SCHOEDER, Ct, BROWN, Ja, SMART, Cd, MOTH, C, WIKSWO, Jp, CAPRA, Ja, MEILER, J, CHEN, W et MADHUR, Ms, 2020. *Which animals are at risk? Predicting species susceptibility to Covid-19* [en ligne]. preprint. Immunology. Disponible à l'adresse : <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.07.09.194563>

ANDERSEN, Kristian G., RAMBAUT, Andrew, LIPKIN, W. Ian, HOLMES, Edward C. et GARRY, Robert F., 2020. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*. avril 2020. Vol. 26, n° 4, pp. 450-452. DOI 10.1038/s41591-020-0820-9.

ANDERSON, Elizabeth L., TURNHAM, Paul, GRIFFIN, John R. et CLARKE, Chester C., 2020. Consideration of the Aerosol Transmission for COVID-19 and Public Health. *Risk Analysis*. mai 2020. Vol. 40, n° 5, pp. 902-907. DOI 10.1111/risa.13500.

ASADI, Sima, BOUVIER, Nicole, WEXLER, Anthony S. et RISTENPART, William D., 2020. The coronavirus pandemic and aerosols: Does COVID-19 transmit via expiratory particles? *Aerosol Science and Technology*. 2 juin 2020. Vol. 54, n° 6, pp. 635-638. DOI 10.1080/02786826.2020.1749229.

ASHIBA, Hiroki, FUJIMAKI, Makoto, AWAZU, Koichi, FU, Mengying, OHKI, Yoshimichi, TANAKA, Torahiko et MAKISHIMA, Makoto, 2015. Hemagglutination detection for blood typing based on waveguide-mode sensors. *Sensing and Bio-Sensing Research*. mars 2015. Vol. 3, pp. 59-64. DOI 10.1016/j.sbsr.2014.12.003.

AZHAR, Esam I., EL-KAFRAWY, Sherif A., FARRAJ, Suha A., HASSAN, Ahmed M., AL-SAEED, Muneera S., HASHEM, Anwar M. et MADANI, Tariq A., 2014. Evidence for Camel-to-Human Transmission of MERS Coronavirus. *New England Journal of Medicine*. 26 juin 2014. Vol. 370, n° 26, pp. 2499-2505. DOI 10.1056/NEJMoa1401505.

BARROSO, Ricardo, VIEIRA-PIRES, Alexandre, ANTUNES, Agostinho et FIDALGO-CARVALHO, Isabel, 2022. Susceptibility of Pets to SARS-CoV-2 Infection: Lessons from a Seroepidemiologic Survey of Cats and Dogs in Portugal. *Microorganisms*. 2 février 2022. Vol. 10, n° 2, pp. 345. DOI 10.3390/microorganisms10020345.

BARRS, Vanessa R., PEIRIS, Malik, TAM, Karina W.S., LAW, Pierra Y.T., BRACKMAN, Christopher J., TO, Esther M.W., YU, Veronica Y.T., CHU, Daniel K.W., PERERA, Ranawaka A.P.M. et SIT, Thomas H.C., 2020. SARS-CoV-2 in Quarantined Domestic Cats from COVID-19 Households or Close Contacts, Hong Kong, China. *Emerging Infectious Diseases*. décembre 2020. Vol. 26, n° 12, pp. 3071-3074. DOI 10.3201/eid2612.202786.

BESSIÈRE, Pierre, FUSADE-BOYER, Maxime, WALCH, Mathilda, LÈBRE, Laetitia, BRUN, Jessie, CROVILLE, Guillaume, BOULLIER, Séverine, CADIERGUES, Marie-Christine et GUÉRIN, Jean-Luc, 2021. Household Cases Suggest That Cats Belonging to Owners with COVID-19 Have a Limited Role in Virus Transmission. *Viruses*. 14 avril 2021. Vol. 13, n° 4, pp. 673. DOI 10.3390/v13040673.

BESSIÈRE, Pierre, VERGNE, Timothée, BATTINI, Matéo, BRUN, Jessie, AVERSO, Julien, JOLY, Etienne, GUÉRIN, Jean-Luc et CADIERGUES, Marie-Christine, 2022. SARS-CoV-2 Infection in Companion Animals: Prospective Serological Survey and Risk Factor Analysis in France. *Viruses*. 28 mai 2022. Vol. 14, n° 6, pp. 1178. DOI 10.3390/v14061178.

BIGNON, Vincent et GARNIER, Olivier, 2020. Mesurer l'impact de la crise Covid-19: L'expérience de la Banque de France. *Revue de l'OFCE*. 1 novembre 2020. Vol. 166, n° 2, pp. 45-57. DOI 10.3917/reof.166.0045.

BIRGAND, Gabriel, KERNEIS, Solen et LUCET, Jean-Christophe, 2022. Modes de transmission du SARS-CoV-2 : que sait-on actuellement ? *Médecine et Maladies Infectieuses Formation*. janvier 2022. pp. S2772743221000015. DOI 10.1016/j.mmifmc.2021.11.001.

BOURDIN, P. et BERNARD, G., 1967. Application de la méthode de séroneutralisation cinétique à la recherche des anticorps neutralisant le virus de la peste bovine chez les bovins, les caprins et les ovins. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. 1 avril 1967. Vol. 20, n° 4, pp. 531. DOI 10.19182/remvt.7450.

BUONANNO, G., STABILE, L. et MORAWSKA, L., 2020. Estimation of airborne viral emission: Quanta emission rate of SARS-CoV-2 for infection risk assessment. *Environment International*. août 2020. Vol. 141, pp. 105794. DOI 10.1016/j.envint.2020.105794.

BUTLER, John E., 2000. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Journal of Immunoassay*. mai 2000. Vol. 21, n° 2-3, pp. 165-209. DOI 10.1080/01971520009349533.

BWIRE, George M., 2020. Coronavirus: Why Men are More Vulnerable to Covid-19 Than Women? *SN Comprehensive Clinical Medicine*. juillet 2020. Vol. 2, n° 7, pp. 874-876. DOI 10.1007/s42399-020-00341-w.

CARRAT, Fabrice, DE LAMBALLERIE, Xavier, RAHIB, Delphine, BLANCHÉ, Hélène, LAPIDUS, Nathanael, ARTAUD, Fanny, KAB, Sofiane, RENUY, Adeline, DE EDELENYI, Fabien Szabo, MEYER, Laurence, LYDIÉ, Nathalie, CHARLES, Marie-Aline, ANCEL, Pierre-Yves, JUSOT, Florence, ROUQUETTE, Alexandra, PRIET, Stéphane, SABA VILLARROEL, Paola Mariela, FOURIÉ, Toscane, LUSIVIKA-NZINGA, Clovis, NICOL, Jerome, LEGOT, Stephane, DRUESNE-PECOLLO, Nathalie, ESSEDDIK, Younes, LAI, Cindy, GAGLILOLO, Jean-Marie, DELEUZE, Jean-François, BAJOS, Nathalie, SEVERI, Gianluca, TOUVIER, Mathilde, ZINS, Marie, et FOR THE SAPRIS AND SAPRIS-SERO STUDY GROUPS, 2020. *Seroprevalence of SARS-CoV-2 among adults in three regions of France following the lockdown and associated risk factors: a multicohort study*. preprint. *Infectious Diseases (except HIV/AIDS)*. Disponible à l'adresse : <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.09.16.20195693>

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC), 2013. Update: Severe respiratory illness associated with Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-

CoV)--worldwide, 2012-2013. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report*. 14 juin 2013. Vol. 62, n° 23, pp. 480-483.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, NATIONAL CENTER FOR IMMUNIZATION AND RESPIRATORY DISEASES, 2021. *Antigenic Characterization* [en ligne]. Disponible à l'adresse : <https://www.cdc.gov/flu/about/professionals/antigenic.htm>

CHAKRAVARTY, Dimple, NAIR, Sujit S., HAMMOUDA, Nada, RATNANI, Parita, GHARIB, Yasmine, WAGASKAR, Vinayak, MOHAMED, Nihal, LUNDON, Dara, DOVEY, Zachary, KYPRIANOU, Natasha et TEWARI, Ashutosh K., 2020. Sex differences in SARS-CoV-2 infection rates and the potential link to prostate cancer. *Communications Biology*. décembre 2020. Vol. 3, n° 1, pp. 374. DOI 10.1038/s42003-020-1088-9.

CHEN, Jianjun, HUANG, Chaolin, ZHANG, Yanan, ZHANG, Sai et JIN, Meilin, 2020. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibodies in Pets in Wuhan, China. *Journal of Infection*. septembre 2020. Vol. 81, n° 3, pp. e68-e69. DOI 10.1016/j.jinf.2020.06.045.

CHOMEL, Bruno B. et SUN, Ben, 2011. Zoonoses in the Bedroom. *Emerging Infectious Diseases*. février 2011. Vol. 17, n° 2, pp. 167-172. DOI 10.3201/eid1702.101070.

CHU, Hin, CHAN, Jasper Fuk-Woo, WANG, Yixin, YUEN, Terrence Tsz-Tai, CHAI, Yue, HOU, Yuxin, SHUAI, Huiping, YANG, Dong, HU, Bingjie, HUANG, Xiner, ZHANG, Xi, CAI, Jian-Piao, ZHOU, Jie, YUAN, Shuofeng, KOK, Kin-Hang, TO, Kelvin Kai-Wang, CHAN, Ivy Hau-Yee, ZHANG, Anna Jinxia, SIT, Ko-Yung, AU, Wing-Kuk et YUEN, Kwok-Yung, 2020. Comparative Replication and Immune Activation Profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in Human Lungs: An Ex Vivo Study With Implications for the Pathogenesis of COVID-19. *Clinical Infectious Diseases*. 12 septembre 2020. Vol. 71, n° 6, pp. 1400-1409. DOI 10.1093/cid/ciaa410.

CHU, Hin, CHAN, Jasper Fuk-Woo, YUEN, Terrence Tsz-Tai, SHUAI, Huiping, YUAN, Shuofeng, WANG, Yixin, HU, Bingjie, YIP, Cyril Chik-Yan, TSANG, Jessica Oi-Ling, HUANG, Xiner, CHAI, Yue, YANG, Dong, HOU, Yuxin, CHIK, Kenn Ka-Heng, ZHANG, Xi, FUNG, Agnes Yim-Fong, TSOI, Hoi-Wah, CAI, Jian-Piao, CHAN, Wan-Mui, IP, Jonathan Daniel, CHU, Allen Wing-Ho, ZHOU, Jie, LUNG, David Christopher, KOK, Kin-Hang, TO, Kelvin Kai-Wang, TSANG, Owen Tak-Yin, CHAN, Kwok-Hung et YUEN, Kwok-Yung, 2020. Comparative tropism, replication kinetics, and cell damage profiling of SARS-CoV-2 and SARS-CoV with implications for clinical manifestations, transmissibility, and laboratory studies of COVID-19: an observational study. *The Lancet Microbe*. mai 2020. Vol. 1, n° 1, pp. e14-e23. DOI 10.1016/S2666-5247(20)30004-5.

COLITTI, Barbara, BERTOLOTTI, Luigi, MANNELLI, Alessandro, FERRARA, Gianmarco, VERCELLI, Andrea, GRASSI, Andrea, TRENTIN, Claudio, PALTRINIERI, Saverio, NOGAROL, Chiara, DECARO, Nicola, BROCCHI, Emiliana et ROSATI, Sergio, 2021. Cross-Sectional Serosurvey of Companion Animals Housed with SARS-CoV-2-Infected Owners, Italy. *Emerging Infectious Diseases*. juillet 2021. Vol. 27, n° 7, pp. 1919-1922. DOI 10.3201/eid2707.203314.

CORMAN, Victor M., MUTH, Doreen, NIEMEYER, Daniela et DROSTEN, Christian, 2018. Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses. In : *Advances in Virus Research*

[en ligne]. Elsevier. pp. 163-188. ISBN 978-0-12-815201-0. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065352718300010>

CORONAVIRIDAE STUDY GROUP OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2020. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*. avril 2020. Vol. 5, n° 4, pp. 536-544. DOI 10.1038/s41564-020-0695-z.

CORTIER, G et AYNAUD, J.-M., 1973. MALADIE DES MUQUEUSES: MISE EN ÉVIDENCE DE VARIATIONS ANTIGÉNIQUES ENTRE DIVERSES SOUCHES A L'AIDE DE LA TECHNIQUE DE SÉRONEUTRALISATION EN CULTURE CELLULAIRE. . 1973. Vol. Annales de Recherches Vétérinaires, n° 4 (1), pp. pp.79-86.

COURTIOUX, Bertrand, 2022. Les zoonoses transmises par le chien et le chat. *Actualités Pharmaceutiques*. mars 2022. Vol. 61, n° 614, pp. 49-52. DOI 10.1016/j.actpha.2021.12.051.

DE LA VEGA, Ricardo, BARQUIN, Roberto Ruíz, BOROS, Szilvia et SZABO, Attila, 2020. *Could Attitudes Toward COVID-19 in Spain Render Men More Vulnerable Than Women?* [en ligne]. preprint. PsyArXiv. Disponible à l'adresse : <https://osf.io/dyxqn>

DERRAIK, José G. B., ANDERSON, William A., CONNELLY, Elizabeth A. et ANDERSON, Yvonne C., 2020. Rapid Review of SARS-CoV-1 and SARS-CoV-2 Viability, Susceptibility to Treatment, and the Disinfection and Reuse of PPE, Particularly Filtering Facepiece Respirators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 22 août 2020. Vol. 17, n° 17, pp. 6117. DOI 10.3390/ijerph17176117.

ELIE, Baptiste et ALIZON, Samuel, 2020. Analyses génomiques et phylodynamiques du Sars-CoV-2. *Revue Francophone des Laboratoires*. novembre 2020. Vol. 2020, n° 526, pp. 57-62. DOI 10.1016/S1773-035X(20)30314-2.

ENS LYON, 2001. *Principe de la RT PCR*. 2001. Disponible à l'adresse : http://www.ens-lyon.fr/RELIE/PCR/ressources/apects_techniques/rtPCR/rtPCR02.htm

FACCO / KANTAR TNS, 2018. *Evolution des populations féline et canine en France entre 2000 et 2018*.

FIERZ, Walter, 2003. Basic Problems of Serological Laboratory Diagnosis. In : DECKER, Jochen et REISCHL, Udo, *Molecular Diagnosis of Infectious Diseases* [en ligne]. New Jersey : Humana Press. pp. 393-428. ISBN 978-1-59259-679-9. Disponible à l'adresse : <http://link.springer.com/10.1385/1-59259-679-7:393>

FREEMAN, Willard M., WALKER, Stephen J. et VRANA, Kent E., 1999. Quantitative RT-PCR: Pitfalls and Potential. *BioTechniques*. janvier 1999. Vol. 26, n° 1, pp. 112-125. DOI 10.2144/99261rv01.

GALLAIS, Floriane, VELAY, Aurélie, NAZON, Charlotte, WENDLING, Marie-Josée, PARTISANI, Marialuisa, SIBILIA, Jean, CANDON, Sophie et FAFI-KREMER, Samira, 2021. Intrafamilial Exposure to SARS-CoV-2 Associated with Cellular Immune Response without Seroconversion, France. *Emerging Infectious Diseases*. janvier 2021. Vol. 27, n° 1, pp. 113-121. DOI 10.3201/eid2701.203611.

GARIGLIANY, Mutien, VAN LAERE, Anne-Sophie, CLERCX, Cécile, GIET, Didier, ESCRIOU, Nicolas, HUON, Christèle, VAN DER WERF, Sylvie, ELOIT, Marc et DESMECHT, Daniel, 2020. SARS-CoV-2 Natural Transmission from Human to Cat, Belgium, March 2020. *Emerging Infectious Diseases*. décembre 2020. Vol. 26, n° 12, pp. 3069-3071. DOI 10.3201/eid2612.202223.

GAUTHERET-DEJEAN, Agnès, 2020. Les variants du SARS-CoV-2 : au pays des homoplasies. [en ligne]. Laboratoire de Microbiologie, Faculté de Pharmacie de Paris INSERM UMR-S 1139, 3PHM, Université de Paris Laboratoire de Virologie, HU La Pitié-Salpêtrière. 2020. Disponible à l'adresse : https://www.acadpharm.org/dos_public/Variants_du_SARS-CoV-2_Academie_de_Pharmacie_17032021_def.pdf

GEHANNO, J.F., BONNETERRE, V., ANDUJAR, P., PAIRON, J.C., PARIS, C., PETIT, A., VERDUN-ESQUER, C., DURAND-MOREAU, Q. et BROCHARD, P., 2020. Arguments pour une possible transmission par voie aérienne du SARS-CoV-2 dans la crise COVID-19. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*. août 2020. Vol. 81, n° 4, pp. 306-315. DOI 10.1016/j.admp.2020.04.018.

GHEBLAWI, Mahmoud, WANG, Kaiming, VIVEIROS, Anissa, NGUYEN, Quynh, ZHONG, Jiu-Chang, TURNER, Anthony J., RAIZADA, Mohan K., GRANT, Maria B. et OUDIT, Gavin Y., 2020. Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circulation Research*. 8 mai 2020. Vol. 126, n° 10, pp. 1456-1474. DOI 10.1161/CIRCRESAHA.120.317015.

GONG, Fanwu, WEI, Hua-xing, LI, Qiangsheng, LIU, Liu et LI, Bofeng, 2021. Evaluation and Comparison of Serological Methods for COVID-19 Diagnosis. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 23 juillet 2021. Vol. 8, pp. 682405. DOI 10.3389/fmolb.2021.682405.

GRISCELLI, Franck et ROUSSY, Gustave, 2020. Sérologie, une nouvelle course démarre contre le Covid-19 : celle des tests sanguins. [en ligne]. 10 avril 2020. Disponible à l'adresse : <https://www.gustaveroussy.fr/fr/covid-19-news-10-avril-2020>

GRUVER, Al, HUDSON, Ll et SEMPOWSKI, Gd, 2007. Immunosenescence of ageing. *The Journal of Pathology*. janvier 2007. Vol. 211, n° 2, pp. 144-156. DOI 10.1002/path.2104.

GUAN, Wei-jie, NI, Zheng-yi, HU, Yu, LIANG, Wen-hua, OU, Chun-quan, HE, Jian-xing, LIU, Lei, SHAN, Hong, LEI, Chun-liang, HUI, David S.C., DU, Bin, LI, Lan-juan, ZENG, Guang, YUEN, Kwok-Yung, CHEN, Ru-chong, TANG, Chun-li, WANG, Tao, CHEN, Ping-yan, XIANG, Jie, LI, Shi-yue, WANG, Jin-lin, LIANG, Zi-jing, PENG, Yi-xiang, WEI, Li, LIU, Yong, HU, Ya-hua, PENG, Peng, WANG, Jian-ming, LIU, Ji-yang, CHEN, Zhong, LI, Gang, ZHENG, Zhi-jian, QIU, Shao-qin, LUO, Jie, YE, Chang-jiang, ZHU, Shao-yong et ZHONG, Nan-shan, 2020. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine*. 30 avril 2020. Vol. 382, n° 18, pp. 1708-1720. DOI 10.1056/NEJMoa2002032.

HAAGMANS, Bart L, AL DHAHIRY, Said H S, REUSKEN, Chantal B E M, RAJ, V Stalin, GALIANO, Monica, MYERS, Richard, GODEKE, Gert-Jan, JONGES, Marcel, FARAG, Elmoubasher, DIAB, Ayman, GHOBASHY, Hazem, ALHAJRI, Farhoud, AL-THANI, Mohamed, AL-MARRI, Salih A, AL ROMAIHI, Hamad E, AL KHAL, Abdullatif,

BERMINGHAM, Alison, OSTERHAUS, Albert D M E, ALHAJRI, Mohd M et KOOPMANS, Marion P G, 2014. Middle East respiratory syndrome coronavirus in dromedary camels: an outbreak investigation. *The Lancet Infectious Diseases*. février 2014. Vol. 14, n° 2, pp. 140-145. DOI 10.1016/S1473-3099(13)70690-X.

HALFMANN, Peter J., HATTA, Masato, CHIBA, Shiho, MAEMURA, Tadashi, FAN, Shufang, TAKEDA, Makoto, KINOSHITA, Noriko, HATTORI, Shin-ichiro, SAKAI-TAGAWA, Yuko, IWATSUKI-HORIMOTO, Kiyoko, IMAI, Masaki et KAWAOKA, Yoshihiro, 2020. Transmission of SARS-CoV-2 in Domestic Cats. *New England Journal of Medicine*. 6 août 2020. Vol. 383, n° 6, pp. 592-594. DOI 10.1056/NEJMc2013400.

HAMER, Sarah A., PAUVOLID-CORRÊA, Alex, ZECCA, Italo B., DAVILA, Edward, AUCKLAND, Lisa D., ROUNDY, Christopher M., TANG, Wendy, TORCHETTI, Mia, KILLIAN, Mary Lea, JENKINS-MOORE, Melinda, MOZINGO, Katie, AKPALU, Yao, GHAI, Ria R., SPENGLER, Jessica R., BEHRAVESH, Casey Barton, FISCHER, Rebecca S. B. et HAMER, Gabriel L., 2020. *Natural SARS-CoV-2 infections, including virus isolation, among serially tested cats and dogs in households with confirmed human COVID-19 cases in Texas, USA.* preprint. *Zoology*. Disponible à l'adresse : <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.12.08.416339>

HAMMING, I., TIMENS, W., BULTHUIS, M. L. C., LELY, A. T., NAVIS, G. J. et VAN GOOR, H., 2004. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *The Journal of Pathology*. juin 2004. Vol. 203, pp. 631-637. DOI 10.1002/path.1570.

HANTZ, Sébastien, 2020. Diagnostic biologique de l'infection à Sars-CoV-2 : stratégies et interprétation des résultats. *Revue Francophone des Laboratoires*. novembre 2020. Vol. 2020, n° 526, pp. 48-56. DOI 10.1016/S1773-035X(20)30313-0.

HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ, H.A.S., 2020. *Aspects immunologiques et virologiques de l'infection par le SARS-CoV-2.* Etudes et rapports. Saint-Denis La Plaine. Disponible à l'adresse : https://www.has-sante.fr/jcms/p_3221567/fr/aspects-immunologiques-et-virologiques-de-l-infection-par-le-sars-cov-2

HEDIYE-BAG, DERYA, 2021. *Définition d'un cas COVID ambulatoire par le biais d'une étude narrative et d'une étude typologique d'une cohorte de 1 500 patients ambulatoires* [en ligne]. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine D.E.S. Médecine générale. Université St Quentin-en-Yvelines. Disponible à l'adresse : http://www.sfm.org/data/generateur/generateur_fiche/1476/fichier_these_derya_bagbbc39.pdf

HOFFMANN, Markus, KLEINE-WEBER, Hannah, SCHROEDER, Simon, KRÜGER, Nadine, HERRLER, Tanja, ERICHSEN, Sandra, SCHIERGENS, Tobias S., HERRLER, Georg, WU, Nai-Huei, NITSCHKE, Andreas, MÜLLER, Marcel A., DROSTEN, Christian et PÖHLMANN, Stefan, 2020. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. avril 2020. Vol. 181, n° 2, pp. 271-280.e8. DOI 10.1016/j.cell.2020.02.052.

HOLLAND, P M, ABRAMSON, R D, WATSON, R et GELFAND, D H, 1991. Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'----3' exonuclease activity of

Thermus aquaticus DNA polymerase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 15 août 1991. Vol. 88, n° 16, pp. 7276-7280. DOI 10.1073/pnas.88.16.7276.

INSTITUT AGRO MONTPELLIER, 2016. La PCR : rappels et mise à niveau. [en ligne]. 2016. Disponible à l'adresse : <https://www.supagro.fr/ress-tice/PCR/1/co/definition.html>

INSTITUT PASTEUR, 2015. *MERS-CoV*.

JAIRAK, Waleemas, CHAROENKUL, Kamonpan, CHAMSAI, Ekkapat, UDOM, Kitikhun, CHAIYAWONG, Supassama, HANGSAWEK, Aphinya, WAENKAEW, Suchart, MUNGAOMKLANG, Anek, TANGWANGVIVAT, Ratanaporn et AMONSIN, Alongkorn, 2022. Survey of SARS-CoV-2 in dogs and cats in high-risk areas during the second wave of COVID-19 outbreak, Thailand. *Zoonoses and Public Health*. 4 janvier 2022. pp. zph.12907. DOI 10.1111/zph.12907.

JATON, Katia, 2007. Revue Médicale Suisse : PCR en microbiologie : de l'amplification de l'ADN à l'interprétation du résultat. GREUB, Gilbert (éd.), *Revue Médicale Suisse*. 2007. Vol. 3, n° 106, pp. 931-938. La Revue Medicale Suisse

JAYATHILAKA, Deshni, JEEWANDARA, Chandima, GOMES, Laksiri, JAYADAS, Tibutius Thanesh Pramanayagam, KAMALADASA, Achala, GURUGE, Dinuka, DARSHANA, Pradeep, RANASINGHE, Thushali, ABYRATHNA, Inoka Sepali, DANASEKARA, Saubhagya, GUNATHILAKA, Buddini, KURUPPU, Heshan, WIJEWICKRAMA, Ananda, WIJAYAMUNI, Ruwan, SCHIMANSKI, Lisa, TAN, T.K., OGG, Graham S., TOWNSEND, Alain et MALAVIGE, Gathsaurie Neelika, 2021. *Comparison of kinetics of immune responses to SARS-CoV-2 proteins in individuals with varying severity of infection and following a single dose of the AZD1222* [en ligne]. preprint. Allergy and Immunology. Disponible à l'adresse : <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2021.07.14.21260510>

JEEWANDARA, Chandima, KAMALADASA, Achala, PUSHPAKUMARA, Pradeep Darshana, JAYATHILAKA, Deshni, ABERATHNA, Inoka Sepali, DANASEKARA, Danasekara Rallage Saubhagya Rasika, GURUGE, Dinuka, RANASINGHE, Thushali, DAYARATHNA, Shashika, PATHMANATHAN, Thilagaraj, SOMATHILAKE, Gayasha, DESHAN MADHUSANKA, Panambara Arachchige, RAMU, Shyrar Tanussiya, PRAMANAYAGAM JAYADAS, Tibutius Thanesh, KURUPPU, Heshan, WIJESINGHE, Ayesha, THASHMI NIMASHA, Herath Mudiyansele, MILROY, Dushantha, NANDASENA, Achini Anuja, NILANKA SANJEEWANI, Poththawela Kankanam Gamage, WIJAYAMUNI, Ruwan, SAMARAWEERA, Sudath, SCHIMANSKI, Lisa, TAN, T. K., DONG, Tao, OGG, Graham S., TOWNSEND, Alain et MALAVIGE, Gathsaurie Neelika, 2021. Immune responses to a single dose of the AZD1222/Covishield vaccine in health care workers. *Nature Communications*. décembre 2021. Vol. 12, n° 1, pp. 4617. DOI 10.1038/s41467-021-24579-7.

JIN, X, YUE, S, WELLS, KS et SINGER, VL, 1994. Sybr Green (Tm)-1-a new fluorescent dye optimized for detection of picogram amounts of DNA in gels. In : *Biophysical Journal*. BIOPHYSICAL SOCIETY 9650 ROCKVILLE PIKE, BETHESDA, MD 20814-3998. 1994. pp. A159-A159. ISBN 0006-3495.

KAMALADASA, Achala, GUNASEKARA, Banuri, JEEWANDARA, Chandima, JAYATHILAKA, Deshni, WIJEWICKRAMA, Ananda, GURUGE, Dinuka, WIJAYAMUNI,

Ruwan, TAN, T.K., OGG, Graham S., TOWNSEND, Alain et MALAVIGE, Gathsaurie Neelika, 2021. Comparison of two assays to detect IgG antibodies to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 as a surrogate marker for assessing neutralizing antibodies in COVID-19 patients. *International Journal of Infectious Diseases*. août 2021. Vol. 109, pp. 85-89. DOI 10.1016/j.ijid.2021.06.031.

KAUSHIC, Charu, 2020. COMPRENDRE LA RÉPONSE IMMUNITAIRE AU SRAS-COV-2. 6 juillet 2020. Disponible à l'adresse : <https://rsc-src.ca/sites/default/files/Publication%20%2328%20%20-%20FR%20-%20%20Immune.pdf>

KHALAF, Khalil, PAPP, Natalia, CHOU, Jadzia Tin-Tsen, HANA, Doris, MACKIEWICZ, Andrzej et KACZMAREK, Mariusz, 2020. SARS-CoV-2: Pathogenesis, and Advancements in Diagnostics and Treatment. *Frontiers in Immunology*. 6 octobre 2020. Vol. 11, pp. 570927. DOI 10.3389/fimmu.2020.570927.

KIKKERT, Marjolein, 2020. Innate Immune Evasion by Human Respiratory RNA Viruses. *Journal of Innate Immunity*. 2020. Vol. 12, n° 1, pp. 4-20. DOI 10.1159/000503030.

KILLIAN, Mary Lea, 2014. Hemagglutination Assay for Influenza Virus. In : SPACKMAN, Erica (éd.), *Animal Influenza Virus*. New York, NY : Springer New York. pp. 3-9. Methods in Molecular Biology. ISBN 978-1-4939-0757-1. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-0758-8_1

KUCHIPUDI, Suresh V., SURENDRAN-NAIR, Meera, RUDEN, Rachel M., YON, Michelle, NISSLY, Ruth H., NELLI, Rahul K., LI, Lingling, JAYARAO, Bhushan M., VANDEGRIFT, Kurt J., MARANAS, Costas D., LEVINE, Nicole, WILLGERT, Katriina, CONLAN, Andrew J. K., OLSEN, Randall J., DAVIS, James J., MUSSER, James M., HUDSON, Peter J. et KAPUR, Vivek, 2021. *Multiple spillovers and onward transmission of SARS-CoV-2 in free-living and captive white-tailed deer*. preprint. Microbiology. [Consulté le 6 octobre 2022]. Disponible à l'adresse : <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2021.10.31.466677>

LAIDOUDI, Younes, SEREME, Youssouf, MEDKOUR, Hacène, WATIER-GRILLOT, Stéphanie, SCANDOLA, Pierre, GINESTA, Jacques, ANDRÉO, Virginie, LABARDE, Claire, COMTET, Loïc, POURQUIER, Philippe, RAOULT, Didier, MARIÉ, Jean-Lou et DAVOUST, Bernard, 2021. SARS-CoV-2 antibodies seroprevalence in dogs from France using ELISA and an automated western blotting assay. *One Health*. décembre 2021. Vol. 13, pp. 100293. DOI 10.1016/j.onehlt.2021.100293.

LEQUIN, Rudolf M, 2005. Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Clinical Chemistry*. 1 décembre 2005. Vol. 51, n° 12, pp. 2415-2418. DOI 10.1373/clinchem.2005.051532.

LI, Qun, GUAN, Xuhua, WU, Peng, WANG, Xiaoye, ZHOU, Lei, TONG, Yeqing, REN, Ruiqi, LEUNG, Kathy S.M., LAU, Eric H.Y., WONG, Jessica Y., XING, Xuesen, XIANG, Nijuan, WU, Yang, LI, Chao, CHEN, Qi, LI, Dan, LIU, Tian, ZHAO, Jing, LIU, Man, TU, Wenxiao, CHEN, Chuding, JIN, Lianmei, YANG, Rui, WANG, Qi, ZHOU, Suhua, WANG, Rui, LIU, Hui, LUO, Yinbo, LIU, Yuan, SHAO, Ge, LI, Huan, TAO, Zhongfa, YANG, Yang, DENG, Zhiqiang, LIU, Boxi, MA, Zhitao, ZHANG, Yanping, SHI, Guoqing, LAM, Tommy T.Y., WU, Joseph T., GAO, George F., COWLING, Benjamin J., YANG, Bo, LEUNG, Gabriel M. et FENG, Zijian, 2020. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel

Coronavirus–Infected Pneumonia. *New England Journal of Medicine*. 26 mars 2020. Vol. 382, n° 13, pp. 1199-1207. DOI 10.1056/NEJMoa2001316.

LIN, Alice V., 2015. Indirect ELISA. In : HNASKO, Robert (éd.), *ELISA* [en ligne]. New York, NY : Springer New York. pp. 51-59. *Methods in Molecular Biology*. [Consulté le 3 juillet 2022]. ISBN 978-1-4939-2741-8. Disponible à l'adresse : http://link.springer.com/10.1007/978-1-4939-2742-5_5

LIU, Jia, LI, Yufeng, LIU, Qian, YAO, Qun, WANG, Xi, ZHANG, Huanyu, CHEN, Rong, REN, Liang, MIN, Juan, DENG, Fei, YAN, Bing, LIU, Liang, HU, Zhihong, WANG, Manli et ZHOU, Yiwu, 2021. SARS-CoV-2 cell tropism and multiorgan infection. *Cell Discovery*. décembre 2021. Vol. 7, n° 1, pp. 17. DOI 10.1038/s41421-021-00249-2.

LIU, Ying, GAYLE, Albert A, WILDER-SMITH, Annelies et ROCKLÖV, Joacim, 2020. The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *Journal of Travel Medicine*. 13 mars 2020. Vol. 27, n° 2, pp. taaa021. DOI 10.1093/jtm/taaa021.

LIVAK, K J, FLOOD, S J, MARMARO, J, GIUSTI, W et DEETZ, K, 1995. Oligonucleotides with fluorescent dyes at opposite ends provide a quenched probe system useful for detecting PCR product and nucleic acid hybridization. *Genome Research*. 1 juin 1995. Vol. 4, n° 6, pp. 357-362. DOI 10.1101/gr.4.6.357.

LONG, Quan-xin, DENG, Hai-jun, CHEN, Juan, HU, Jie-li, LIU, Bei-zhong, LIAO, Pu, LIN, Yong, YU, Li-hua, MO, Zhan, XU, Yin-yin, GONG, Fang, WU, Gui-cheng, ZHANG, Xian-xiang, CHEN, Yao-kai, LI, Zhi-jie, WANG, Kun, ZHANG, Xiao-li, TIAN, Wen-guang, NIU, Chang-chun, YANG, Qing-jun, XIANG, Jiang-lin, DU, Hong-xin, LIU, Hua-wen, LANG, Chun-hui, LUO, Xiao-He, WU, Shao-bo, CUI, Xiao-ping, ZHOU, Zheng, WANG, Jing, XUE, Cheng-jun, LI, Xiao-feng, WANG, Li, TANG, Xiao-jun, ZHANG, Yong, QIU, Jing-fu, LIU, Xia-mao, LI, Jin-jing, ZHANG, De-chun, ZHANG, Fan, CAI, Xue-fei, WANG, De-qiang, HU, Yuan, REN, Ji-hua, TANG, Ni, LIU, Ping, LI, Qin et HUANG, Ai-long, 2020. *Antibody responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: the perspective application of serological tests in clinical practice*. preprint. Infectious Diseases (except HIV/AIDS). Disponible à l'adresse : <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.03.18.20038018>

LV, Huibin, WU, Nicholas C., TSANG, Owen Tak-Yin, YUAN, Meng, PERERA, Ranawaka A. P. M., LEUNG, Wai Shing, SO, Ray T. Y., CHUN CHAN, Jacky Man, YIP, Garrick K., HONG CHIK, Thomas Shiu, WANG, Yiquan, CHUNG CHOI, Chris Yau, LIN, Yihan, NG, Wilson W., ZHAO, Jincun, POON, Leo L. M., MALIK PEIRIS, J. S., WILSON, Ian A. et MOK, Chris K. P., 2020. *Cross-reactive antibody response between SARS-CoV-2 and SARS-CoV infections* [en ligne]. preprint. Microbiology. [Consulté le 1 juillet 2022]. Disponible à l'adresse : <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.03.15.993097>

MA, Xiaojing, 2001. TNF- α and IL-12: a balancing act in macrophage functioning. *Microbes and Infection*. février 2001. Vol. 3, n° 2, pp. 121-129. DOI 10.1016/S1286-4579(00)01359-9.

MAHALLAWI, Waleed H., 2021. A serological assay to detect human SARS-CoV-2 antibodies. *Journal of Taibah University Medical Sciences*. février 2021. Vol. 16, n° 1, pp. 57-62. DOI 10.1016/j.jtumed.2020.11.011.

MALDONADO, Lucas L., BERTELLI, Andrea Mendoza et KAMENETZKY, Laura, 2021. Molecular features similarities between SARS-CoV-2, SARS, MERS and key human genes

could favour the viral infections and trigger collateral effects. *Scientific Reports*. décembre 2021. Vol. 11, n° 1, pp. 4108. DOI 10.1038/s41598-021-83595-1.

MALIK, Y. A., 2020. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. *The Malaysian Journal of Pathology*. avril 2020. Vol. 42, n° 1, pp. 3-11.

MAMMETTE, A, 2002. *Virologie Médicale* [en ligne]. Presse Universitaire de Lyon. Azay. Disponible à l'adresse : https://books.google.fr/books?hl=en&lr=&id=DGQQk2ysULYC&oi=fnd&pg=PA187&dq=Test+d%27hémagglutination+test+virologique&ots=TEFkP8UXKm&sig=EABmgVga8Fc2MDz_juZmL1AmzYk&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

MARTINA, Byron E. E., HAAGMANS, Bart L., KUIKEN, Thijs, FOUCHIER, Ron A. M., RIMMELZWAAN, Guus F., VAN AMERONGEN, Geert, PEIRIS, J. S. Malik, LIM, Wilina et OSTERHAUS, Albert D. M. E., 2003. SARS virus infection of cats and ferrets. *Nature*. octobre 2003. Vol. 425, n° 6961, pp. 915-915. DOI 10.1038/425915a.

MATUSALI, Giulia, COLAVITA, Francesca, LAPA, Daniele, MESCHI, Silvia, BORDI, Licia, PISELLI, Pierluca, GAGLIARDINI, Roberta, CORPOLONGO, Angela, NICASTRI, Emanuele, ANTINORI, Andrea, IPPOLITO, Giuseppe, CAPOBIANCHI, Maria, CASTILLETI, Concetta, et INMI COVID-19 LABORATORY TEAM, 2021. SARS-CoV-2 Serum Neutralization Assay: A Traditional Tool for a Brand-New Virus. *Viruses*. 10 avril 2021. Vol. 13, n° 4, pp. 655. DOI 10.3390/v13040655.

MAURICE, Yves et PROVOST, Alain, 1966. Les réactions d'hémagglutination et d'inhibition de l'hémagglutination avec le virus de la peste équine. Limites de leur interprétation. *Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux*. 1966. Vol. 19, n° 4, pp. 439-450.

MEHTA, Puja, MCAULEY, Daniel F, BROWN, Michael, SANCHEZ, Emilie, TATTERSALL, Rachel S et MANSON, Jessica J, 2020. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*. mars 2020. Vol. 395, n° 10229, pp. 1033-1034. DOI 10.1016/S0140-6736(20)30628-0.

MEKONNEN, Daniel, MENGIST, Hylemariam Mihiretie, DERBIE, Awoke, NIBRET, Endalkachew, MUNSHEA, Abaineh, HE, Hongliang, LI, Bofeng et JIN, Tengchuan, 2021. Diagnostic accuracy of serological tests and kinetics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibody: A systematic review and meta-analysis. *Reviews in Medical Virology* [en ligne]. mai 2021. Vol. 31, n° 3. DOI 10.1002/rmv.2181. Disponible à l'adresse : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/rmv.2181>

MICHELITSCH, Anna, HOFFMANN, Donata, WERNIKE, Kerstin et BEER, Martin, 2020. Occurrence of Antibodies against SARS-CoV-2 in the Domestic Cat Population of Germany. *Vaccines*. 17 décembre 2020. Vol. 8, n° 4, pp. 772. DOI 10.3390/vaccines8040772.

MICHELITSCH, Anna, SCHÖN, Jacob, HOFFMANN, Donata, BEER, Martin et WERNIKE, Kerstin, 2021. The Second Wave of SARS-CoV-2 Circulation—Antibody Detection in the Domestic Cat Population in Germany. *Viruses*. 27 mai 2021. Vol. 13, n° 6, pp. 1009. DOI 10.3390/v13061009.

MORAWSKA, Lidia et CAO, Junji, 2020. Airborne transmission of SARS-CoV-2: The world should face the reality. *Environment International*. juin 2020. Vol. 139, pp. 105730. DOI 10.1016/j.envint.2020.105730.

MORENO, Ana, TROGU, Tiziana, LELLI, Davide, PEZZONI, Giulia, GRAZIOLI, Santina, SOZZI, Enrica, VERGARA-ALERT, Julia, SEGALÉS, Joaquim, FERNÁNDEZ-BELLÓN, Hugo, TERREGINO, Calogero, RUGNA, Gianluca et LAVAZZA, Antonio, 2022. Comparison of serological tests for SARS-CoV2 antibody detection in animals. [en ligne]. 12th International Congress for Veterinary Virology European Society for Veterinary Virology September 20-23, 2022 Gent ICC - Ghent, Belgium. 2022. Disponible à l'adresse : <https://archive.izsler.it/posters/377.pdf>

MOUSAVIZADEH, Leila et GHASEMI, Sorayya, 2021. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. avril 2021. Vol. 54, n° 2, pp. 159-163. DOI 10.1016/j.jmii.2020.03.022.

MUSSO, Nicolò, COSTANTINO, Angelita, LA SPINA, Sebastiano, FINOCCHIARO, Alessandra, ANDRONICO, Francesca, STRACQUADANIO, Stefano, LIOTTA, Luigi, VISALLI, Rosanna et EMMANUELE, Giovanni, 2020. New SARS-CoV-2 Infection Detected in an Italian Pet Cat by RT-qPCR from Deep Pharyngeal Swab. *Pathogens*. 11 septembre 2020. Vol. 9, n° 9, pp. 746. DOI 10.3390/pathogens9090746.

NEWMAN, Alexandra, SMITH, David, GHAI, Ria R., WALLACE, Ryan M., TORCHETTI, Mia Kim, LOIACONO, Christina, MURRELL, Laura S., CARPENTER, Ann, MOROFF, Scott, ROONEY, Jane A. et BARTON BEHRAVESH, Casey, 2020. First Reported Cases of SARS-CoV-2 Infection in Companion Animals — New York, March–April 2020. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*. 12 juin 2020. Vol. 69, n° 23, pp. 710-713. DOI 10.15585/mmwr.mm6923e3.

NG, Wern Hann, TIPIH, Thomas, MAKOA, Nigel A., VERMEULEN, Jan-G, GOEDHALS, Dominique, SEMPA, Joseph B., BURT, Felicity J., TAYLOR, Adam et MAHALINGAM, Suresh, 2021. Comorbidities in SARS-CoV-2 Patients: a Systematic Review and Meta-Analysis. GRIFFIN, Diane E. (éd.), *mBio*. 23 février 2021. Vol. 12, n° 1, pp. e03647-20. DOI 10.1128/mBio.03647-20.

NICHOLLS, John M, POON, Leo LM, LEE, Kam C, NG, Wai F, LAI, Sik T, LEUNG, Chung Y, CHU, Chung M, HUI, Pak K, MAK, Kong L, LIM, Wilna, YAN, Kin W, CHAN, Kwok H, TSANG, Ngai C, GUAN, Yi, YUEN, Kwok Y et MALIK PEIRIS, Js, 2003. Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome. *The Lancet*. mai 2003. Vol. 361, n° 9371, pp. 1773-1778. DOI 10.1016/S0140-6736(03)13413-7.

NICHOLSON, Lindsay B., 2016. The immune system. *Essays in Biochemistry*. 31 octobre 2016. Vol. 60, n° 3, pp. 275-301. DOI 10.1042/EBC20160017.

OGANDO, Natacha S., DALEBOUT, Tim J., ZEVENHOVEN-DOBBE, Jessika C., LIMPENS, Ronald W.A.L., VAN DER MEER, Yvonne, CALY, Leon, DRUCE, Julian, DE VRIES, Jutte J. C., KIKKERT, Marjolein, BÀRCENA, Montserrat, SIDOROV, Igor et SNIJDER, Eric J., 2020. SARS-coronavirus-2 replication in Vero E6 cells: replication kinetics, rapid adaptation and cytopathology. *Journal of General Virology*. 1 septembre 2020. Vol. 101, n° 9, pp. 925-940. DOI 10.1099/jgv.0.001453.

OKBA, Nisreen M.A., MÜLLER, Marcel A., LI, Wentao, WANG, Chunyan, GEURTSVANKESSEL, Corine H., CORMAN, Victor M., LAMERS, Mart M., SIKKEMA, Reina S., DE BRUIN, Erwin, CHANDLER, Felicity D., YAZDANPANA, Yazdan, LE HINGRAT, Quentin, DESCAMPS, Diane, HOUHOU-FIDOUH, Nadhira, REUSKEN,

Chantal B. E. M., BOSCH, Berend-Jan, DROSTEN, Christian, KOOPMANS, Marion P.G. et HAAGMANS, Bart L., 2020. *SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients* [en ligne]. preprint. *Infectious Diseases (except HIV/AIDS)*. [Consulté le 1 juillet 2022]. Disponible à l'adresse : <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.03.18.20038059>

PAN, Yang, ZHANG, Daitao, YANG, Peng, POON, Leo L M et WANG, Quanyi, 2020. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *The Lancet Infectious Diseases*. avril 2020. Vol. 20, n° 4, pp. 411-412. DOI 10.1016/S1473-3099(20)30113-4.

PATTERSON, E. I., ELIA, G., GRASSI, A., GIORDANO, A., DESARIO, C., MEDARDO, M., SMITH, S. L., ANDERSON, E. R., PRINCE, T., PATTERSON, G. T., LORUSSO, E., LUCENTE, M. S., LANAVE, G., LAUZI, S., BONFANTI, U., STRANIERI, A., MARTELLA, V., SOLARI BASANO, F., BARRS, V. R., RADFORD, A. D., AGRIMI, U., HUGHES, G. L., PALTRINIERI, S. et DECARO, N., 2020. Evidence of exposure to SARS-CoV-2 in cats and dogs from households in Italy. *Nature Communications*. décembre 2020. Vol. 11, n° 1, pp. 6231. DOI 10.1038/s41467-020-20097-0.

PICCOLI, Luca, PARK, Young-Jun, TORTORICI, M. Alejandra, CZUDNOCHOWSKI, Nadine, WALLS, Alexandra C., BELTRAMELLO, Martina, SILACCI-FREGNI, Chiara, PINTO, Dora, ROSEN, Laura E., BOWEN, John E., ACTON, Oliver J., JACONI, Stefano, GUARINO, Barbara, MINOLA, Andrea, ZATTA, Fabrizia, SPRUGASCI, Nicole, BASSI, Jessica, PETER, Alessia, DE MARCO, Anna, NIX, Jay C., MELE, Federico, JOVIC, Sandra, RODRIGUEZ, Blanca Fernandez, GUPTA, Sneha V., JIN, Feng, PIUMATTI, Giovanni, LO PRESTI, Giorgia, PELLANDA, Alessandra Franzetti, BIGGIOGERO, Maira, TARKOWSKI, Maciej, PIZZUTO, Matteo S., CAMERONI, Elisabetta, HAVENAR-DAUGHTON, Colin, SMITHEY, Megan, HONG, David, LEPORI, Valentino, ALBANESE, Emiliano, CESCHI, Alessandro, BERNASCONI, Enos, ELZI, Luigia, FERRARI, Paolo, GARZONI, Christian, RIVA, Agostino, SNELL, Gyorgy, SALLUSTO, Federica, FINK, Katja, VIRGIN, Herbert W., LANZAVECCHIA, Antonio, CORTI, Davide et VEESLER, David, 2020. Mapping Neutralizing and Immunodominant Sites on the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain by Structure-Guided High-Resolution Serology. *Cell*. novembre 2020. Vol. 183, n° 4, pp. 1024- 1042.e21. DOI 10.1016/j.cell.2020.09.037.

POITRAS, Elyse et HOUDE, Alain, 2003. La PCR en temps réel: Principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology*. 1 janvier 2003. Vol. 2, pp. 2-11.

POMORSKA-MÓL, Małgorzata, TURLEWICZ-PODBIELSKA, Hanna, GOGULSKI, Maciej, RUSZKOWSKI, Jakub J., KUBIAK, Magdalena, KURIGA, Anna, BARKET, Przemysław et POSTRZECH, Marek, 2021. A cross-sectional retrospective study of SARS-CoV-2 seroprevalence in domestic cats, dogs and rabbits in Poland. *BMC Veterinary Research*. décembre 2021. Vol. 17, n° 1, pp. 322. DOI 10.1186/s12917-021-03033-2.

PRATHER, Kimberly A., WANG, Chia C. et SCHOOLEY, Robert T., 2020. Reducing transmission of SARS-CoV-2. *Science*. 26 juin 2020. Vol. 368, n° 6498, pp. 1422-1424. DOI 10.1126/science.abc6197.

RABAAN, Ali A., AL-AHMED, Shamsah H., HAQUE, Shafiul, SAH, Ranjit, TIWARI, Ruchi, MALIK, Yashpal Singh, DHAMA, Kuldeep, YATOO, M. Iqbal, BONILLA-ALDANA, D. Katterine et RODRIGUEZ-MORALES, Alfonso J., 2020. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: A comparative overview. *Le Infezioni in Medicina*. 1 juin 2020. Vol. 28, n° 2, pp. 174-184.

ROBBA, Chiara, BATTAGLINI, Denise, PELOSI, Paolo et ROCCO, Patricia R. M., 2020. Multiple organ dysfunction in SARS-CoV-2: MODS-CoV-2. *Expert Review of Respiratory Medicine*. 1 septembre 2020. Vol. 14, n° 9, pp. 865-868. DOI 10.1080/17476348.2020.1778470.

ROTHMAN, Kenneth J. et GREENLAND, Sander, 2005. Causation and Causal Inference in Epidemiology. *American Journal of Public Health*. juillet 2005. Vol. 95, n° S1, pp. S144-S150. DOI 10.2105/AJPH.2004.059204.

RUIZ-ARRONDO, Ignacio, PORTILLO, Aránzazu, PALOMAR, Ana M., SANTIBÁÑEZ, Sonia, SANTIBÁÑEZ, Paula, CERVERA, Cristina et OTEO, José A., 2021. Detection of SARS-CoV-2 in pets living with COVID-19 owners diagnosed during the COVID-19 lockdown in Spain: A case of an asymptomatic cat with SARS-CoV-2 in Europe. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2021. Vol. 68, n° 2, pp. 973-976. DOI 10.1111/tbed.13803.

SAILLEAU, Corinne, DUMAREST, Marine, VANHOMWEGEN, Jessica, DELAPLACE, Manon, CARO, Valerie, KWASIBORSKI, Aurélia, HOURDEL, Véronique, CHEVAILLIER, Patrick, BARBARINO, Alix, COMTET, Loic, POURQUIER, Philippe, KLONJKOWSKI, Bernard, MANUGUERRA, Jean-Claude, ZIENTARA, Stephan et LE PODER, Sophie, 2020. First detection and genome sequencing of SARS-CoV-2 in an infected cat in France. *Transboundary and Emerging Diseases*. novembre 2020. Vol. 67, n° 6, pp. 2324-2328. DOI 10.1111/tbed.13659.

SALLARD, Erwan, HALLOY, José, CASANE, Didier, VAN HELDEN, Jacques et DECROLY, Étienne, 2020. Retrouver les origines du SARS-CoV-2 dans les phylogénies de coronavirus. *médecine/sciences*. août 2020. Vol. 36, n° 8-9, pp. 783-796. DOI 10.1051/medsci/2020123.

SÁNCHEZ-MORALES, Lidia, SÁNCHEZ-VIZCAÍNO, José M., PÉREZ-SANCHO, Marta, DOMÍNGUEZ, Lucas et BARROSO-ARÉVALO, Sandra, 2022. *The Omicron (B.1.1.529) SARS-CoV-2 variant of concern also affects companion animals* [en ligne]. preprint. Molecular Biology. Disponible à l'adresse : <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2022.04.13.488132>

SEGONDY, Michel, 2020. Les Coronavirus humains. *Revue Francophone des Laboratoires*. novembre 2020. Vol. 2020, n° 526, pp. 32-39. DOI 10.1016/S1773-035X(20)30311-7.

SHI, Jianzhong, WEN, Zhiyuan, ZHONG, Gongxun, YANG, Huanliang, WANG, Chong, HUANG, Baoying, LIU, Renqiang, HE, Xijun, SHUAI, Lei, SUN, Ziruo, ZHAO, Yubo, LIU, Peipei, LIANG, Libin, CUI, Pengfei, WANG, Jinliang, ZHANG, Xianfeng, GUAN, Yuntao, TAN, Wenjie, WU, Guizhen, CHEN, Hualan et BU, Zhigao, 2020. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science (New York, N.Y.)*. 29 mai 2020. Vol. 368, n° 6494, pp. 1016-1020. DOI 10.1126/science.abb7015.

SHI, Yulin, WAN, Zhuoyue, LI, Linhai, LI, Ping, LI, Chufang, MA, Qingjun et CAO, Cheng, 2004. Antibody responses against SARS-coronavirus and its nucleocapsid in SARS patients. *Journal of Clinical Virology*. septembre 2004. Vol. 31, n° 1, pp. 66-68. DOI 10.1016/j.jcv.2004.05.006.

SMITH, Shirley L., ANDERSON, Enyia R., CANSADO-UTRILLA, Cintia, PRINCE, Tessa, FARRELL, Sean, BRANT, Bethaney, SMYTH, Steven, NOBLE, Peter-John M.,

PINCHBECK, Gina L., MARSHALL, Nikki, ROBERTS, Larry, HUGHES, Grant L., RADFORD, Alan D. et PATTERSON, Edward I., 2021. SARS-CoV-2 neutralising antibodies in dogs and cats in the United Kingdom. *Current Research in Virological Science*. 2021. Vol. 2, pp. 100011. DOI 10.1016/j.crviro.2021.100011.

SONG, Huai-Dong, TU, Chang-Chun, ZHANG, Guo-Wei, WANG, Sheng-Yue, ZHENG, Kui, LEI, Lian-Cheng, CHEN, Qiu-Xia, GAO, Yu-Wei, ZHOU, Hui-Qiong, XIANG, Hua, ZHENG, Hua-Jun, CHERN, Shur-Wern Wang, CHENG, Feng, PAN, Chun-Ming, XUAN, Hua, CHEN, Sai-Juan, LUO, Hui-Ming, ZHOU, Duan-Hua, LIU, Yu-Fei, HE, Jian-Feng, QIN, Peng-Zhe, LI, Ling-Hui, REN, Yu-Qi, LIANG, Wen-Jia, YU, Ye-Dong, ANDERSON, Larry, WANG, Ming, XU, Rui-Heng, WU, Xin-Wei, ZHENG, Huan-Ying, CHEN, Jin-Ding, LIANG, Guodong, GAO, Yang, LIAO, Ming, FANG, Ling, JIANG, Li-Yun, LI, Hui, CHEN, Fang, DI, Biao, HE, Li-Juan, LIN, Jin-Yan, TONG, Suxiang, KONG, Xiangang, DU, Lin, HAO, Pei, TANG, Hua, BERNINI, Andrea, YU, Xiao-Jing, SPIGA, Ottavia, GUO, Zong-Ming, PAN, Hai-Yan, HE, Wei-Zhong, MANUGUERRA, Jean-Claude, FONTANET, Arnaud, DANCHIN, Antoine, NICCOLAI, Neri, LI, Yi-Xue, WU, Chung-I et ZHAO, Guo-Ping, 2005. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 15 février 2005. Vol. 102, n° 7, pp. 2430-2435. DOI 10.1073/pnas.0409608102.

STADNYTSKYI, Valentyn, BAX, Christina E., BAX, Adriaan et ANFINRUD, Philip, 2020. The airborne lifetime of small speech droplets and their potential importance in SARS-CoV-2 transmission. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2 juin 2020. Vol. 117, n° 22, pp. 11875-11877. DOI 10.1073/pnas.2006874117.

STATISTA RESEARCH DEPARTMENT, 2020. *Les Français et les animaux de compagnie - Faits et chiffres* [en ligne]. Disponible à l'adresse : https://fr.statista.com/themes/3183/les-francais-et-les-animaux-de-compagnie/#topicHeader__wrapper

STATISTA RESEARCH DEPARTMENT, 2022. *Nombre de foyers possédant au moins un chat ou chien en France en 2017*. Disponible à l'adresse : <https://fr.statista.com/statistiques/885328/nombre-foyers-chat-chien-france/>

STEVANOVIC, Vladimir, VILIBIC-CAVLEK, Tatjana, TABAIN, Irena, BENVIN, Iva, KOVAC, Snjezana, HRUSKAR, Zeljka, MAURIC, Maja, MILASINCIC, Ljiljana, ANTOLASIC, Ljiljana, SKRINJARIC, Alenka, STARESINA, Vilim et BARBIC, Ljubo, 2021. Seroprevalence of SARS-CoV-2 infection among pet animals in Croatia and potential public health impact. *Transboundary and Emerging Diseases*. juillet 2021. Vol. 68, n° 4, pp. 1767-1773. DOI 10.1111/tbed.13924.

STOUT, Alison E., ANDRÉ, Nicole M., JAIMES, Javier A., MILLET, Jean K. et WHITTAKER, Gary R., 2020. Coronaviruses in cats and other companion animals: Where does SARS-CoV-2/COVID-19 fit? *Veterinary Microbiology*. août 2020. Vol. 247, pp. 108777. DOI 10.1016/j.vetmic.2020.108777.

STRANG, T, FLOCKHART, L, THACKER, C, SCHWANTJE, H, SOOS, C, DIBERNARDO, A, LINDSAY, Lr, TOLEDO, N, BEAUCLERC, K, FRASER, E, PRYSTAJECKY, N et HIMSWORTH, C, 2022. SARS-CoV-2 wildlife surveillance surrounding mink farms in British Columbia, Canada. *Canada Communicable Disease Report*. 21 juin 2022. Vol. 48, n° 6, pp. 252-260. DOI 10.14745/ccdr.v48i06a03.

TAI, Wanbo, HE, Lei, ZHANG, Xiujuan, PU, Jing, VORONIN, Denis, JIANG, Shibo, ZHOU, Yusen et DU, Lanying, 2020. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cellular & Molecular Immunology*. juin 2020. Vol. 17, n° 6, pp. 613-620. DOI 10.1038/s41423-020-0400-4.

TANG, Fang, QUAN, Yan, XIN, Zhong-Tao, WRAMMERT, Jens, MA, Mai-Juan, LV, Hui, WANG, Tian-Bao, YANG, Hong, RICHARDUS, Jan H., LIU, Wei et CAO, Wu-Chun, 2011. Lack of Peripheral Memory B Cell Responses in Recovered Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome: A Six-Year Follow-Up Study. *The Journal of Immunology*. 15 juin 2011. Vol. 186, n° 12, pp. 7264-7268. DOI 10.4049/jimmunol.0903490.

TANG, Xiaolu, WU, Changcheng, LI, Xiang, SONG, Yuhe, YAO, Xinmin, WU, Xinkai, DUAN, Yuange, ZHANG, Hong, WANG, Yirong, QIAN, Zhaohui, CUI, Jie et LU, Jian, 2020. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review*. 1 juin 2020. Vol. 7, n° 6, pp. 1012-1023. DOI 10.1093/nsr/nwaa036.

TEMMAM, Sarah, BARBARINO, Alix, MASO, Djérène, BEHILLIL, Sylvie, ENOUF, Vincent, HUON, Christèle, JARAUD, Ambre, CHEVALLIER, Lucie, BACKOVIC, Marija, PÉROT, Philippe, VERWAERDE, Patrick, TIRET, Laurent, VAN DER WERF, Sylvie et ELOIT, Marc, 2020. Absence of SARS-CoV-2 infection in cats and dogs in close contact with a cluster of COVID-19 patients in a veterinary campus. *One Health*. décembre 2020. Vol. 10, pp. 100164. DOI 10.1016/j.onehlt.2020.100164.

TESTA, Amélie et FACCO/TNS SOFRES, 2022. *50% des français possèdent un animal domestique !*. Disponible à l'adresse : <https://www.facco.fr/wp-content/uploads/2019/09/facco-communique-presse-enquete-kantar-facco.pdf>

TO, Kelvin Kai-Wang, TSANG, Owen Tak-Yin, YIP, Cyril Chik-Yan, CHAN, Kwok-Hung, WU, Tak-Chiu, CHAN, Jacky Man-Chun, LEUNG, Wai-Shing, CHIK, Thomas Shiu-Hong, CHOI, Chris Yau-Chung, KANDAMBY, Darshana H, LUNG, David Christopher, TAM, Anthony Raymond, POON, Rosana Wing-Shan, FUNG, Agnes Yim-Fong, HUNG, Ivan Fan-Ngai, CHENG, Vincent Chi-Chung, CHAN, Jasper Fuk-Woo et YUEN, Kwok-Yung, 2020. Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva. *Clinical Infectious Diseases*. 28 juillet 2020. Vol. 71, n° 15, pp. 841-843. DOI 10.1093/cid/ciaa149.

TOWNSEND, Alain, RIJAL, Pramila, XIAO, Julie, TAN, Tiong Kit, HUANG, Kuan-Ying A, SCHIMANSKI, Lisa, HUO, Jiangdong, GUPTA, Nimesh, RAHIKAINEN, Rolle, MATTHEWS, Philippa C, CROOK, Derrick, HOOSDALLY, Sarah, STREET, Teresa, RUDKIN, Justine, STOESSER, Nicole, KARPE, Fredrik, NEVILLE, Matthew, PLOEG, Rutger, OLIVEIRA, Marta, ROBERTS, David J, LAMIKANRA, Abigail A, TSANG, Hoi Pat, BOWN, Abbie, VIPOND, Richard, MENTZER, Alexander J, KNIGHT, Julian C, KWOK, Andrew, SCREATON, Gavin, MONGKOLSAPAYA, Juthathip, DEJNIRATTISAI, Wanwisa, SUPASA, Piyada, KLENERMAN, Paul, DOLD, Christina, BAILLIE, Kenneth, MOORE, Shona C, OPENSHAW, Peter JM, SEMPLE, Malcolm G, TURTLE, Lance CW, AINSWORTH, Mark, ALLCOCK, Alice, BEER, Sally, BIBI, Sagida, CLUTTERBUCK, Elizabeth, ESPINOSA, Alexis, MENDOZA, Maria, GEORGIU, Dominique, LOCKETT, Teresa, MARTINEZ, Jose, PEREZ, Elena, SANCHEZ, Veronica, SCOZZAFAVA, Giuseppe, SOBRINODIAZ, Alberto, THRAVES, Hannah et JOLY, Etienne, 2020. *A haemagglutination test for rapid detection of antibodies to SARS-CoV-2* [en ligne]. preprint. *Infectious Diseases*

(except HIV/AIDS). Disponible à l'adresse :
<http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.10.02.20205831>

TRUELOVE, Shaun, ZHU, Huachen, LESSLER, Justin, RILEY, Steven, READ, Jonathan M., WANG, Shuying, KWOK, Kin On, GUAN, Yi, JIANG, Chao Qiang et CUMMINGS, Derek A. T., 2016. A comparison of hemagglutination inhibition and neutralization assays for characterizing immunity to seasonal influenza A. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. novembre 2016. Vol. 10, n° 6, pp. 518-524. DOI 10.1111/irv.12408.

VABRET, A., DINA, J., BRISON, E., BROUARD, J. et FREYMUTH, F., 2009. Coronavirus humains (HCoV). *Pathologie Biologie*. mars 2009. Vol. 57, n° 2, pp. 149-160. DOI 10.1016/j.patbio.2008.02.018.

VAN DOREMALEN, Neeltje, BUSHMAKER, Trenton, MORRIS, Dylan H., HOLBROOK, Myndi G., GAMBLE, Amandine, WILLIAMSON, Brandi N., TAMIN, Azaibi, HARCOURT, Jennifer L., THORNBURG, Natalie J., GERBER, Susan I., LLOYD-SMITH, James O., DE WIT, Emmie et MUNSTER, Vincent J., 2020. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *New England Journal of Medicine*. 16 avril 2020. Vol. 382, n° 16, pp. 1564-1567. DOI 10.1056/NEJMc2004973.

VASHIST, Sandeep Kumar, 2020. In Vitro Diagnostic Assays for COVID-19: Recent Advances and Emerging Trends. *Diagnostics*. 5 avril 2020. Vol. 10, n° 4, pp. 202. DOI 10.3390/diagnostics10040202.

VILLENEUVE, Marianne, 2014. Méthodes d'étude des virus et de diagnostic virologique.. Université de Liège. 2014. Disponible à l'adresse : <https://slideplayer.fr/slide/1477535/>

WEGMANN, Thomas G. et SMITHIES, Oliver, 1966. A Simple Hemagglutination System Requiring Small Amounts of Red Cells and Antibodies. *Transfusion*. 2 janvier 1966. Vol. 6, n° 1, pp. 67-73. DOI 10.1111/j.1537-2995.1966.tb04696.x.

WEISS, Susan R. et LEIBOWITZ, Julian L., 2011. Coronavirus Pathogenesis. In : *Advances in Virus Research*. Elsevier. pp. 85-164. ISBN 978-0-12-385885-6. Disponible à l'adresse : <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123858856000092>

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022a. *Coronavirus disease (COVID-19) pandemic* [en ligne]. Disponible à l'adresse : <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022b. *MERS SITUATION UPDATE*. Disponible à l'adresse : <https://applications.emro.who.int/docs/WHOEMCSR552E-eng.pdf?ua=1>

WROBEL, Antoni G., BENTON, Donald J., XU, Pengqi, CALDER, Lesley J., BORG, Annabel, ROUSTAN, Chloë, MARTIN, Stephen R., ROSENTHAL, Peter B., SKEHEL, John J. et GAMBLIN, Steven J., 2021. Structure and binding properties of Pangolin-CoV spike glycoprotein inform the evolution of SARS-CoV-2. *Nature Communications*. décembre 2021. Vol. 12, n° 1, pp. 837. DOI 10.1038/s41467-021-21006-9.

WU, Lili, CHEN, Qian, LIU, Kefang, WANG, Jia, HAN, Pengcheng, ZHANG, Yanfang, HU, Yu, MENG, Yumin, PAN, Xiaoqian, QIAO, Chengpeng, TIAN, Siyu, DU, Pei, SONG, Hao, SHI, Weifeng, QI, Jianxun, WANG, Hong-Wei, YAN, Jinghua, GAO, George Fu et WANG, Qihui, 2020. Broad host range of SARS-CoV-2 and the molecular basis for SARS-CoV-2

binding to cat ACE2. *Cell Discovery*. décembre 2020. Vol. 6, n° 1, pp. 68. DOI 10.1038/s41421-020-00210-9.

XIAO, Ai Tang, GAO, Chun et ZHANG, Sheng, 2020. Profile of specific antibodies to SARS-CoV-2: The first report. *Journal of Infection*. juillet 2020. Vol. 81, n° 1, pp. 147-178. DOI 10.1016/j.jinf.2020.03.012.

YU, Hai-qiong, SUN, Bao-qing, FANG, Zhang-fu, ZHAO, Jin-cun, LIU, Xiao-yu, LI, Yi-min, SUN, Xi-zhuo, LIANG, Hong-feng, ZHONG, Bei, HUANG, Zhi-feng, ZHENG, Pei-yan, TIAN, Li-feng, QU, Hui-Qi, LIU, De-chen, WANG, Er-yi, XIAO, Xiao-jun, LI, Shi-yue, YE, Feng, GUAN, Li, HU, Dong-sheng, HAKONARSON, Hakon, LIU, Zhi-gang et ZHONG, Nan-shan, 2020. Distinct features of SARS-CoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients. *European Respiratory Journal*. août 2020. Vol. 56, n° 2, pp. 2001526. DOI 10.1183/13993003.01526-2020.

ZHAI, Xiaofeng, SUN, Jiumeng, YAN, Ziqing, ZHANG, Jie, ZHAO, Jin, ZHAO, Zongzheng, GAO, Qi, HE, Wan-Ting, VEIT, Michael et SU, Shuo, 2020. Comparison of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Spike Protein Binding to ACE2 Receptors from Human, Pets, Farm Animals, and Putative Intermediate Hosts. GALLAGHER, Tom (éd.), *Journal of Virology*. 16 juillet 2020. Vol. 94, n° 15, pp. e00831-20. DOI 10.1128/JVI.00831-20.

ZHANG, Qiang, ZHANG, Huajun, GAO, Jindong, HUANG, Kun, YANG, Yong, HUI, Xianfeng, HE, Xinglin, LI, Chengfei, GONG, Wenxiao, ZHANG, Yufei, ZHAO, Ya, PENG, Cheng, GAO, Xiaoxiao, CHEN, Huanchun, ZOU, Zhong, SHI, Zheng-Li et JIN, Meilin, 2020. A serological survey of SARS-CoV-2 in cat in Wuhan. *Emerging Microbes & Infections*. 1 janvier 2020. Vol. 9, n° 1, pp. 2013-2019. DOI 10.1080/22221751.2020.1817796.

ZHANG, Qiang, ZHANG, Huajun, HUANG, Kun, YANG, Yong, HUI, Xianfeng, GAO, Jindong, HE, Xinglin, LI, Chengfei, GONG, Wenxiao, ZHANG, Yufei, PENG, Cheng, GAO, Xiaoxiao, CHEN, Huanchun, ZOU, Zhong, SHI, Zhengli et JIN, Meilin, 2020. *SARS-CoV-2 neutralizing serum antibodies in cats: a serological investigation*. preprint. Microbiology. Disponible à l'adresse : <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.04.01.021196>

ZHONG, Ns, ZHENG, Bj, LI, Ym, POON, Llm, XIE, Zh, CHAN, Kh, LI, Ph, TAN, Sy, CHANG, Q, XIE, Jp, LIU, Xq, XU, J, LI, Dx, YUEN, Ky, PEIRIS, Jsm et GUAN, Y, 2003. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People's Republic of China, in February, 2003. *The Lancet*. octobre 2003. Vol. 362, n° 9393, pp. 1353-1358. DOI 10.1016/S0140-6736(03)14630-2.

ZHOU, Hong, CHEN, Xing, HU, Tao, LI, Juan, SONG, Hao, LIU, Yanran, WANG, Peihan, LIU, Di, YANG, Jing, HOLMES, Edward C., HUGHES, Alice C., BI, Yuhai et SHI, Weifeng, 2020. A Novel Bat Coronavirus Closely Related to SARS-CoV-2 Contains Natural Insertions at the S1/S2 Cleavage Site of the Spike Protein. *Current Biology*. juin 2020. Vol. 30, n° 11, pp. 2196- 2203.e3. DOI 10.1016/j.cub.2020.05.023.

ZHOU, Peng, YANG, Xing-Lou, WANG, Xian-Guang, HU, Ben, ZHANG, Lei, ZHANG, Wei, SI, Hao-Rui, ZHU, Yan, LI, Bei, HUANG, Chao-Lin, CHEN, Hui-Dong, CHEN, Jing, LUO, Yun, GUO, Hua, JIANG, Ren-Di, LIU, Mei-Qin, CHEN, Ying, SHEN, Xu-Rui, WANG, Xi, ZHENG, Xiao-Shuang, ZHAO, Kai, CHEN, Quan-Jiao, DENG, Fei, LIU, Lin-Lin, YAN, Bing, ZHAN, Fa-Xian, WANG, Yan-Yi, XIAO, Geng-Fu et SHI, Zheng-Li, 2020. Addendum:

A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 3 décembre 2020. Vol. 588, n° 7836, pp. E6-E6. DOI 10.1038/s41586-020-2951-z.

ZHOU, Yonggang, FU, Binqing, ZHENG, Xiaohu, WANG, Dongsheng, ZHAO, Changcheng, QI, Yingjie, SUN, Rui, TIAN, Zhigang, XU, Xiaoling et WEI, Haiming, 2020. *Aberrant pathogenic GM-CSF⁺ T cells and inflammatory CD14⁺ CD16⁺ monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus*. preprint. *Immunology*. [Consulté le 27 septembre 2022]. Disponible à l'adresse : <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.02.12.945576>

ZHU, Na, WANG, Wenling, LIU, Zhidong, LIANG, Chaoyang, WANG, Wen, YE, Fei, HUANG, Baoying, ZHAO, Li, WANG, Huijuan, ZHOU, Weimin, DENG, Yao, MAO, Longfei, SU, Chongyu, QIANG, Guangliang, JIANG, Taijiao, ZHAO, Jincun, WU, Guizhen, SONG, Jingdong et TAN, Wenjie, 2020. Morphogenesis and cytopathic effect of SARS-CoV-2 infection in human airway epithelial cells. *Nature Communications*. décembre 2020. Vol. 11, n° 1, pp. 3910. DOI 10.1038/s41467-020-17796-z.

ZHU, Zhe, CAI, Ting, FAN, Lingyan, LOU, Kehong, HUA, Xin, HUANG, Zuoan et GAO, Guosheng, 2020. Clinical value of immune-inflammatory parameters to assess the severity of coronavirus disease 2019. *International Journal of Infectious Diseases*. juin 2020. Vol. 95, pp. 332-339. DOI 10.1016/j.ijid.2020.04.041.

ZHUKOVA, Anna, BLASSEL, Luc, LEMOINE, Frédéric, MOREL, Marie, VOZNICA, Jakub et GASCUEL, Olivier, 2021. Origin, evolution and global spread of SARS-CoV-2. *Comptes Rendus. Biologies*. 21 juin 2021. Vol. 344, n° 1, pp. 57-75. DOI 10.5802/crbiol.29.

ZOU, Lirong, RUAN, Feng, HUANG, Mingxing, LIANG, Lijun, HUANG, Huitao, HONG, Zhongsi, YU, Jianxiang, KANG, Min, SONG, Yingchao, XIA, Jinyu, GUO, Qianfang, SONG, Tie, HE, Jianfeng, YEN, Hui-Ling, PEIRIS, Malik et WU, Jie, 2020. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *New England Journal of Medicine*. 19 mars 2020. Vol. 382, n° 12, pp. 1177-1179. DOI 10.1056/NEJMc2001737.

Annexes

Annexe 1 : Questionnaire permettant de regrouper les informations des propriétaires ainsi que celles des animaux de l'étude

N° d'identification (réservé ENVT) :

Date de l'entrevue :

STRUCTURE VETERINAIRE AYANT PRIS EN CHARGE L'ANIMAL

Nom du vétérinaire en charge du cas :

Adresse postale :

Adresse mail :

Numéro de téléphone (portable de préférence):

ANIMAL

Nom : Sexe : mâle femelle stérilisé(e)

Age : ___ ans

Race :

Mode de vie/interactions avec l'Homme :

- a) Votre animal sort-il à l'extérieur ? Oui Non
- Si oui, sort-il tous les jours ? Oui Non
 - Si oui, quelle est la durée passée à l'extérieur ?
- <1h/jour 1-4 h/jour 5-12 h/jour >12h/jour
- Si non, à quelle fréquence sort-il à l'extérieur ?
- Au moins une fois par semaine Au moins une fois par mois
- b) Y a-t-il un (ou plusieurs) autre animal dans votre entourage ? Non Oui Nombre :
- Si oui, s'agit-il d'un animal vivant :
 - au même domicile dans le voisinage
 - De quel type d'animal s'agit-il ? et combien ?
- chat chien lapin furet
- Quelle est la fréquence des contacts avec cet (ces) autre(s) animal(aux) ?
- Permanent ≥1 fois par semaine <1 fois par semaine NSP

c) Comment qualifieriez-vous les **interactions** que vous avez avec votre chat ?

A quelle fréquence ...	au moins une fois/jour	plusieurs fois/semaine	une fois/semaine	une fois/mois	jamais
jouez-vous avec votre chat?					
toilettez-vous votre chat ?					
caressez-vous votre chat ?					
embrassez-vous/câlinez-vous votre chat?					
avez-vous le chat sur vos genoux/près de vous (en regardant la TV, au lit) ?					

Antécédents médicaux

a) Autre affection connue en cours ou chronique : Oui Non

- Si oui, spécifier :

b) Traitement en cours Oui Non

- Si oui, spécifier (antibiotique, autre):

Vaccins

T HC oui, à jour oui, non à jour depuis 20 ___ non

Leucose oui, à jour oui, non à jour depuis 20 ___ non

Rage oui, à jour oui, non à jour depuis 20 ___ non

Chlamydie oui, à jour oui, non à jour depuis 20 ___ non

Symptômes observés

Date d'apparition :

Date de fin :

aucun

anorexie

hyperthermie

léthargie

gingivite

polyadénite

diarrhée

stomatite

bronchopneumonie

toux

autres (spécifier):

commentaires :

.....
.....

PROPRIETAIRE

Code postal

Ville

Dates des symptômes évocateurs de COVID-19 : début : / /2020 fin : / /2020

Test spécifique COVID-19 pratiqué ? oui non

- Ecouvillon (PCR) positif négatif prise de sang (sérologie) positif négatif

Autres personnes du foyer testées positives ? non oui nombre _____

Symptômes

respiratoires

syndrome grippal sévère

conjonctivite

syndrome de détresse respiratoire aigüe

insuffisance rénale

digestifs

perte de goût

perte d'odorat

autres, précisez :

En vertu du Code de la Santé Publique et de la Loi « Informatique et liberté », et dans le respect de la confidentialité, nous vous informons de la possible utilisation des échantillons biologiques et des données associées, à des fins de recherche par l'ENVT. En effet, l'ENVT conduit des travaux de recherche en vue d'améliorer le diagnostic et les connaissances générales sur les virus respiratoires et les pathologies qui en résultent. Toute recherche en matière de génétique est exclue de cette démarche. Vous pouvez, si vous le souhaitez, refuser l'utilisation à des fins de recherche des prélèvements et/ou données personnelles en vous adressant au CHUV de l'ENVT (chuv@envt.fr – 05 61 19 38 62)

5.2 Annexe 2 : Fiche d'accompagnement des prélèvements

N° d'identification: -----

Date du prélèvement	Date d'envoi	Date de réception	Date d'analyse

1. Structure vétérinaire

Nom du vétérinaire en charge du cas :

Adresse postale :

Adresse mail :

Numéro de téléphone (portable de préférence):

2. Propriétaire

Code postal :

Ville :

3. Chat

Nom :

sexe : M F

âge (ans) :

race :

4. Site, nombre et type de prélèvements :

sang (**tube sec**) *idéalement 3 mL*

Communication

SARS-CoV-2 Infection in Companion Animals: Prospective Serological Survey and Risk Factor Analysis in France

Pierre Bessière ¹ , Timothée Vergne ¹, Matéo Battini ¹, Jessie Brun ², Julien Averso ², Etienne Joly ³, Jean-Luc Guérin ¹ and Marie-Christine Cadiergues ^{2,4,*} 

- ¹ IHAP, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, 31076 Toulouse, France; pierre.bessiere@envt.fr (P.B.); timothee.vergne@envt.fr (T.V.); mateo.battini_17@envt.fr (M.B.); jean-luc.guerin@envt.fr (J.-L.G.)
² Small Animal Clinic, Université de Toulouse, ENVT, 31076 Toulouse, France; jessie.brun@envt.fr (J.B.); averso.julien@gmail.com (J.A.)
³ Institute of Pharmacology and Structural Biology (IPBS), Université de Toulouse, CNRS, 31400 Toulouse, France; etienne.joly@ipbs.fr
⁴ INFINITY, Université de Toulouse, INSERM, CNRS, UT3, ENVT, 31059 Toulouse, France
 * Correspondence: marie-christine.cadiergues@envt.fr

Abstract: Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2), responsible for COVID-19 in people, has been detected in companion animals on rare occasions. A limited number of large-scale studies have investigated the exposure of companion animals to SARS-CoV-2. The objective of this prospective study was to estimate seroprevalence in privately owned dogs and cats presented in veterinary clinics in different French regions and to test the hypothesis that the occurrence of an episode of COVID-19 in the household and close contact with the owner would increase the chances of the animals being seropositive. One hundred and sixty-five dogs and 143 cats were blood-sampled between March 2020 and December 2021. Neutralizing SARS-CoV-2 antibodies were detected in 8.4% of cats (12/143) and 5.4% of dogs (9/165). Seven animals (three dogs and four cats) were seropositive in the absence of an episode of COVID-19 in the household. Despite not being statistically significant (chi-square test, p -value = 0.55), our data may suggest that the occurrence of an episode of COVID-19 in the household could increase the risk of animal seropositivity (odds ratio = 1.38; 95% confidence interval = 0.55–3.77). This survey indirectly shows that SARS-CoV-2 circulates in canine and feline populations, but its circulation appears to be too low for pets to act as a significant viral reservoir.

Keywords: SARS-CoV-2; dog; cat; serology; epidemiology; survey; risk factors



Citation: Bessière, P.; Vergne, T.; Battini, M.; Brun, J.; Averso, J.; Joly, E.; Guérin, J.-L.; Cadiergues, M.-C. SARS-CoV-2 Infection in Companion Animals: Prospective Serological Survey and Risk Factor Analysis in France. *Viruses* **2022**, *14*, 1178. <https://doi.org/10.3390/v14061178>

Academic Editor: Regina Hofmann-Lehmann

Received: 20 April 2022

Accepted: 26 May 2022

Published: 28 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) emerged in 2019 in China and rapidly spread worldwide [1]. While the primary virus host is humans, several spill-over events have been reported that, in some cases, have resulted in sustained animal-to-animal transmission [2]. Among domestic animals, cats and dogs are susceptible hosts to SARS-CoV-2 infection. With viral shedding being frequently weak and transient in these species [3,4], detection of anti-SARS-CoV-2 antibodies is the best way to monitor viral circulation. A limited number of large-scale studies have investigated the exposure of companion animals to SARS-CoV-2 [5–11]. Our study contributes to this evidence by estimating seroprevalence in cats and dogs in France and testing the hypothesis that the occurrence of an episode of COVID-19 in the household and close contact with the owner increase the chances of the animals being seropositive. A secondary objective was to compare two serological diagnostic methods: an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and a hemagglutination-based assay.

2. Materials and Methods

2.1. Ethics

The animal experiments were approved by the Sciences et Santé Animales (SSA–Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse) N°115 Ethics Committee (Approval No. SSA_2020_010). Written consent from the pets' owners was obtained prior to the beginning of the study.

2.2. Sample Collection

The survey was conducted prospectively during healthcare visits at veterinary clinics or veterinary university hospitals between March 2020 and December 2021 throughout metropolitan France. Information on each sampled animal was registered by the veterinarian. It included the signalment of the animal (species, breed, age, and gender), its lifestyle (indoor/outdoor and time spent outdoors), the occurrence of clinical signs suggestive of SARS-CoV-2 infection (anorexia, hyperthermia, lethargy, gingivitis, polyadenitis, diarrhea, stomatitis, bronchopneumonia, cough, and/or other), and the proximity between the pet and the owner (cuddling, playing, or frequent grooming). The information obtained from the owners included the occurrence of a COVID-19 episode in the household and, if any, the severity of the owner's symptoms and the availability of a positive test result were recorded. The data were entered online on a dedicated platform allowing pseudonymization. Blood samples were taken by standard venepuncture. The serum was collected by centrifugation, and stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analyses.

2.3. Hemagglutination Test

The hemagglutination test (HAT) was used as previously described [12]. The assay was carried out in 96-well plates, with 50 μL of IH4-RBD reagent (2 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 1 μL of undiluted serum, and 1 μL of human red blood cells from an O negative donor diluted at 30% *v/v* in PBS. To detect xenoreactive sera, for every sample, a negative control was performed using PBS instead of the IH4-RBD reagent. Feline serum from a previous experiment was used as a positive control. Plates were incubated for 1 h at room temperature and briefly centrifuged. Then, they were tilted to detect the lack of teardrop formation indicative of a positive reaction.

2.4. ELISA

The serological status of the animals was assessed using a commercial SARS-CoV-2 N double antigen enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit in accordance with the manufacturer's instructions (ID Screen[®] SARS-CoV-2 Double Antigen Multi-species ELISA, ID.vet, Grabels, France).

2.5. Serum Neutralization Assay

ELISA and HAT positive or inconclusive sera were further tested using a virus serum neutralization assay, which was carried out using Vero-E6 cells, as described previously [3]. Briefly, samples were heat-inactivated for 30 min at $56\text{ }^{\circ}\text{C}$, serially diluted in PBS, and mixed with 100 TCID₅₀ of SARS-CoV-2 (strain hCoV-19/France/OCC-IHAP-VIR12/2020), in a final volume of 100 μL . After being incubated for 1 h, virus serum mixtures were deposited onto cells. Cells were washed with PBS 1 h later and then incubated in infection media (DMEM complemented with 2% of heat-inactivated fetal bovine serum and 1% of penicillin-streptomycin) for 72 h at $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, with 5% CO₂. They were then screened for cytopathic effects. Serum neutralization titers were defined as the highest serum dilution inhibiting viral growth. Experiments were carried out in a biosafety level 3 facility at the National Veterinary School of Toulouse.

2.6. Statistical Analysis

The univariable associations between the serological test results and all putative risk variables were tested using a Fisher test for all animals together and for cats and dogs separately. A multivariable logistic regression on the serological status was also performed

using both the species and the previous occurrence of a COVID-19 episode in the household as explanatory variables, as these two variables were the main focus of the analysis. The other variables studied were the severity of the COVID-19 episode (asymptomatic, mild, or serious), whether the owners had performed a test (PCR or serological) to confirm their infection, and the nature of their relationship with their pet (close or distant).

3. Results

We collected 314 samples. After the exclusion of six cats (owing to an unfilled questionnaire), a total of 308 privately owned dogs (165) and cats (143) from different French regions (Figure 1) were included in the study.

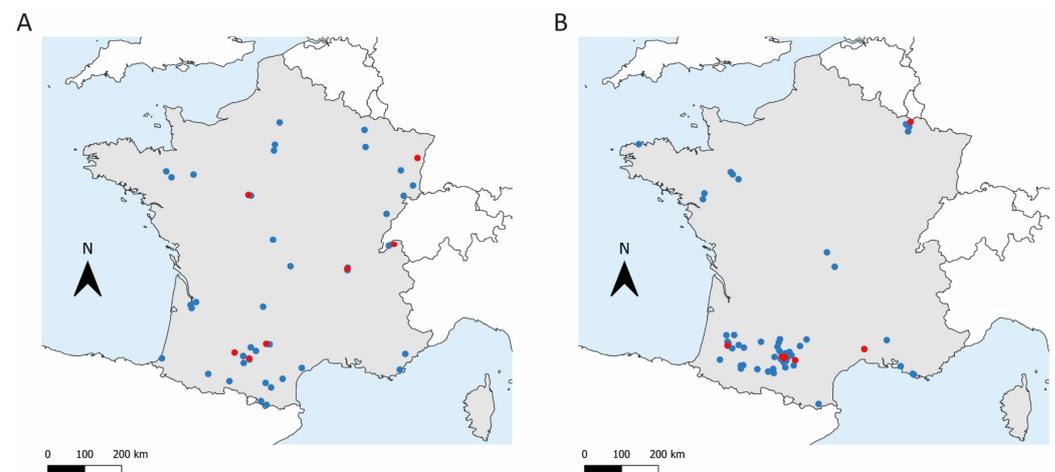


Figure 1. Spatial distribution of the feline (A) and canine (B) sample locations. Blue dots indicate samples that were negative for anti-SARS-CoV-2 antibodies. Red dots indicate samples that were positive.

Sera were first screened using two techniques: ELISA and HAT. Sample positivity was then confirmed by a virus serum neutralization assay. Sera were considered positive only if the virus serum neutralization assay was positive. Neutralizing SARS-CoV-2 antibodies were detected in 12 cats (8.4%, 12/143) and 9 dogs (5.4%, 9/165).

While all ELISA positive sera were serum neutralization positive, seven feline samples (4.9%, 7/143) and seven canine samples (4.2%, 7/165) were HAT positive and ELISA negative, but serum neutralization positive. HAT thus appears more sensitive than ELISA, and possibly also more sensitive than serum neutralization because nine cat and 20 dog sera were HAT positive, but showed no viral neutralization activity in our assay. On the other hand, a sizeable number of sera (6.8%, 21/308), from 16 cats and five dogs, contained xenoreactive antibodies, causing hemagglutination in the HAT negative control, and were all found to be negative in the virus neutralization assay. Detailed information regarding all sera and tests results can be found in Table S1.

In the univariable analysis, none of the tested predictor variables were significantly associated with the animals' serological status (Table 1). In the multivariable logistic regression, the odds ratio (OR) of being seropositive for cats, as compared with dogs, was estimated to be 1.51 (95% confidence interval: 0.61–3.84). Similarly, the OR of being seropositive for pets from a household with a previous COVID-19 episode, as compared with pets from a household without a previous COVID-19 episode, was estimated to be 1.38 (95% CI: 0.55–3.77).

Table 1. Detailed information on dogs' and cats' serological status and risk factors in the household, in the univariable analysis.

		Serological Status for All Pets		<i>p</i> -Value *	Serological Status for Dogs		<i>p</i> -Value **	Serological Status for Cats		<i>p</i> -Value **
		Positive	Negative		Positive	Negative		Positive	Negative	
Species (n = 308)	dog	9	156	0.42						
	cat	12	131							
Relationship pet-owner (n = 305)	close	16	199	0.73	5	95	0.74	11	104	0.69
	distant	5	85		4	61		1	24	
COVID-19 episode in the household (n = 308)	yes	14	165	0.55	6	77	0.50	8	88	1
	no	7	122		3	79		4	43	
Severity of the COVID-19 episode (n = 308)	serious	4	27	0.34 ***	2	8	0.11	2	19	1
	mild	10	138		4	69		6	69	
	none	7	122		3	79		4	43	
COVID-19 owner test (n = 292)	positive	11	121	0.40 *	6	65	0.41	5	56	0.71
	negative	3	29		0	9		3	20	
	no test	6	122		3	82		3	40	

* Chi-square test. ** Fisher's exact test. *** A Fisher's exact test was used instead of the chi-squared test because at least one of the expected numbers was less than 5.

4. Discussion

This study reveals that, although not systematic, the transmission of SARS-CoV-2 from humans to domestic carnivores is far from rare. Anti-SARS-CoV-2 antibodies were found in 8.4% and 5.4% of cat and dog samples, respectively. Interestingly, whether or not the owners had contracted COVID-19 was not statistically significantly associated with the serological status of the animals, in contrast to the results of a large-scale study [10]. However, the associated OR, adjusted for the species, suggests a potential association of practical interest (1.38; 95% CI: 0.55–3.77). Two hypotheses are thus possible: either the risk of contamination of pets outside the household is substantial, or, more realistically, the sample size was too small to reveal a significant difference.

The different seroprevalence studies performed in Europe reported variable positivity rates. While studies performed in Germany, the United Kingdom, and Croatia found positivity rates below 3% [9,13,14], an Italian study reported higher rates: 3.3% and 5.8% in cats and dogs, respectively [10]. Several factors may explain the differences: geographical location, the number of cases reported in humans, and the way the animals were included in the study, among others. As some coronaviruses are endemic in companion animals, one may wonder if infections prior to the emergence of SARS-CoV-2 could be the cause of false positives. As previously reported, there is no cross-reactivity between neutralizing antibodies induced by SARS-CoV-2 infection and those induced by canine and feline coronavirus infections [13].

Our study has several limitations. Firstly, the size of our cohort was limited—we collected about three hundred samples, while other studies have reached a thousand [6,9]. Secondly, the samples were collected over a long period of time, so we were unable to take the influence of the different variants of SARS-CoV-2 into account. Human-to-domestic animal SARS-CoV-2 transmission probably mirrors the rise in registered human cases, as previously suggested [9]. The more recent the sampling campaign, the more likely it is that the tests could be positive. Nevertheless, the majority of our positive samples (67%, 14/21) were taken in 2020, early in the pandemic. As a significant number of sera were collected in the south-west of the country (the Occitanie region), one might wonder to what extent this introduces a bias into our analysis, in addition to the fact that France has undergone several epidemic waves. Nevertheless, according to the database used to explore data on the epidemic in France (<https://covidtracker.fr/covidexplorer/>; accessed on 25 May 2022), the epidemiological situation in the Occitanie region was broadly similar to that of the rest of the country throughout the first waves.

We also tested the HAT designed by Townsend et al. [12], which is inexpensive, quick and easy to use; and, from our results, more sensitive than ELISA. Despite these advantages,

we would not recommend its use for dog and cat samples because of the high proportion of sera containing xenoreactive antibodies (6.8%), making the test inconclusive.

In conclusion, SARS-CoV-2 has been shown to circulate in canine and feline populations, but its circulation appears to be too low for pets to act as a viral reservoir. Nevertheless, viral circulation needs to be monitored, as it cannot be excluded that variants (such as immune-escaping variants) may emerge in domestic carnivores.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/v14061178/s1>. Table S1: ELISA, HAT, and virus serum neutralization results.

Author Contributions: Conceptualization, P.B., T.V., E.J., J.-L.G. and M.-C.C.; methodology, P.B., T.V., E.J. and M.-C.C.; software, J.B. and J.A.; validation, P.B. and T.V.; formal analysis, P.B., T.V. and M.-C.C.; investigation, P.B., M.B., J.B., E.J. and M.-C.C.; data curation, P.B. and J.B.; writing—original draft preparation, P.B.; writing—review and editing, P.B., T.V., E.J. and M.-C.C.; supervision, J.-L.G. and M.-C.C.; project administration, P.B., J.B. and M.-C.C.; funding acquisition, J.-L.G. and M.-C.C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the research unit IHAP (Université de Toulouse, INRAE, ENVT) and by the department of dermatology of ENVT.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee Sciences et Santé Animale n° 115 (protocol code COVIFEL approved on 1 September 2020, registered under SSA_2020_010).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available because of the need to maintain patient confidentiality.

Acknowledgments: We warmly thank the pets' owners and veterinarians for their involvement in the study. We are very thankful to Innovative Diagnostics for providing ELISA kits. We warmly thank Lisa Fourtune for the generation of sample spatial distribution maps.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Zhou, P.; Yang, X.L.; Wang, X.G.; Hu, B.; Zhang, L.; Zhang, W.; Si, H.R.; Zhu, Y.; Li, B.; Huang, C.L.; et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* **2020**, *579*, 270–273. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Hale, V.L.; Dennis, P.M.; McBride, D.S.; Nolting, J.M.; Madden, C.; Huey, D.; Ehrlich, M.; Grieser, J.; Winston, J.; Lombardi, D.; et al. SARS-CoV-2 infection in free-ranging white-tailed deer. *Nature* **2022**, *602*, 481–486. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Bessiere, P.; Fusade-Boyer, M.; Walch, M.; Lebre, L.; Brun, J.; Croville, G.; Boullier, S.; Cadiergues, M.C.; Guerin, J.L. Household Cases Suggest That Cats Belonging to Owners with COVID-19 Have a Limited Role in Virus Transmission. *Viruses* **2021**, *13*, 673. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Sit, T.H.C.; Brackman, C.J.; Ip, S.M.; Tam, K.W.S.; Law, P.Y.T.; To, E.M.W.; Yu, V.Y.T.; Sims, L.D.; Tsang, D.N.C.; Chu, D.K.W.; et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature* **2020**, *586*, 776–778. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Barroso, R.; Vieira-Pires, A.; Antunes, A.; Fidalgo-Carvalho, I. Susceptibility of Pets to SARS-CoV-2 Infection: Lessons from a Seroepidemiologic Survey of Cats and Dogs in Portugal. *Microorganisms* **2022**, *10*, 345. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Barroso-Arevalo, S.; Barneto, A.; Ramos, A.M.; Rivera, B.; Sanchez, R.; Sanchez-Morales, L.; Perez-Sancho, M.; Buendia, A.; Ferreras, E.; Ortiz-Menendez, J.C.; et al. Large-scale study on virological and serological prevalence of SARS-CoV-2 in cats and dogs in Spain. *Transbound. Emerg. Dis.* **2021**, 1–16. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Colitti, B.; Bertolotti, L.; Mannelli, A.; Ferrara, G.; Vercelli, A.; Grassi, A.; Trentin, C.; Paltrinieri, S.; Nogarol, C.; Decaro, N.; et al. Cross-Sectional Serosurvey of Companion Animals Housed with SARS-CoV-2-Infected Owners, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* **2021**, *27*, 1919–1922. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Jairak, W.; Charoenkul, K.; Chamsai, E.; Udom, K.; Chaiyawong, S.; Hangsawek, A.; Waenkaew, S.; Mungaomklang, A.; Tangwangvivat, R.; Amonsin, A. Survey of SARS-CoV-2 in dogs and cats in high-risk areas during the second wave of COVID-19 outbreak, Thailand. *Zoonoses Public Health* **2022**, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Michelitsch, A.; Schon, J.; Hoffmann, D.; Beer, M.; Wernike, K. The Second Wave of SARS-CoV-2 Circulation-Antibody Detection in the Domestic Cat Population in Germany. *Viruses* **2021**, *13*, 1009. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

10. Patterson, E.I.; Elia, G.; Grassi, A.; Giordano, A.; Desario, C.; Medardo, M.; Smith, S.L.; Anderson, E.R.; Prince, T.; Patterson, G.T.; et al. Evidence of exposure to SARS-CoV-2 in cats and dogs from households in Italy. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 6231. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Pomorska-Mol, M.; Turlawicz-Podbielska, H.; Gogulski, M.; Ruskowski, J.J.; Kubiak, M.; Kuriga, A.; Barket, P.; Postrzech, M. A cross-sectional retrospective study of SARS-CoV-2 seroprevalence in domestic cats, dogs and rabbits in Poland. *BMC Vet. Res.* **2021**, *17*, 322. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Townsend, A.; Rijal, P.; Xiao, J.; Tan, T.K.; Huang, K.A.; Schimanski, L.; Huo, J.; Gupta, N.; Rahikainen, R.; Matthews, P.C.; et al. A haemagglutination test for rapid detection of antibodies to SARS-CoV-2. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 1951. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Smith, S.L.; Anderson, E.R.; Cansado-Utrilla, C.; Prince, T.; Farrell, S.; Brant, B.; Smyth, S.; Noble, P.M.; Pinchbeck, G.L.; Marshall, N.; et al. SARS-CoV-2 neutralising antibodies in dogs and cats in the United Kingdom. *Curr. Res. Virol. Sci.* **2021**, *2*, 100011. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Stevanovic, V.; Vilibic-Cavlek, T.; Tabain, I.; Benvin, I.; Kovac, S.; Hruskar, Z.; Mauric, M.; Milasincic, L.; Antolasic, L.; Skrinjaric, A.; et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 infection among pet animals in Croatia and potential public health impact. *Transbound. Emerg. Dis.* **2021**, *68*, 1767–1773. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

BATTINI Matéo

-

ANNEE 2022

THESE : 2022- TOU 3 – 4096

**SEROPREVALENCE DU SARS-COV-2 CHEZ
LE CHAT ET LE CHIEN EN FRANCE :
EPIDEMIOLOGIE DESCRIPTIVE ET FACTEURS DE RISQUES**

Résumé : Le SARS-CoV-2 est le virus responsable de la pandémie de COVID-2019. L'origine et les potentielles espèces réservoirs de ce virus ont longtemps suscité une préoccupation mondiale majeure. L'objectif de cette étude était d'estimer la séroprévalence chez les chiens et les chats et d'objectiver certains facteurs de risque. L'objectif était aussi de comparer deux méthodes de diagnostic sérologique : l'ELISA et l'hémagglutination par la séroneutralisation. 165 chiens et 143 chats ont été prélevés. Des anticorps ont été détectés chez 8,4 % des chats et 5,4 % des chiens. Bien que non statistiquement significatives, nos données suggèrent que la survenue d'un épisode de COVID-19 dans le foyer pourrait augmenter le risque. Aucun autre facteur de risque n'a réellement été mis en avant. Nous déconseillons l'utilisation des deux tests. Pour finir cette enquête montre indirectement que le SARS-CoV-2 circule dans les populations canines et félines, mais qu'elles semblent jouer un rôle mineur.

Mot clés : *SARS-COV-2 ; Chien ; Chat ; Sérologie ; Épidémiologie*

**SEROPREVALENCE OF SARS-COV-2 IN
CAT AND DOG POPULATIONS IN FRANCE :
DESCRIPTIVE EPIDEMIOLOGY AND RISK FACTORS**

Abstract : SARS-CoV-2 is the virus responsible for the COVID-2019 pandemic. The origin and potential reservoir species of this virus have long been a major global concern. The objective of this study was to estimate the seroprevalence in dogs and cats and to objectify some risk factors. The objective was also to compare two serological diagnostic methods: ELISA and hemagglutination by serum neutralization. 165 dogs and 143 cats were sampled. Antibodies were detected in 8.4% of cats and 5.4% of dogs. Although not statistically significant, our data suggest that the occurrence of a COVID-19 episode in the household may increase the risk. No other risk factors were really put forward. We advise against the use of both tests. Finally, this survey indirectly shows that SARS-CoV-2 is circulating in the canine and feline populations, but that they seem to play a minor role.

Keywords : SARS-COV-2; Dog; Cat; Serology; Epidemiology