

Diagnostic virologique des infections respiratoires dans la phase post-Covid-19

Bruno Pozzetto^{1,2,3}, Jean-Winoc Decousser^{4,5}, Sara Romano-Bertrand^{6,7}

1- Service des agents infectieux et d'hygiène – Centre hospitalier universitaire (CHU) de Saint-Étienne – Saint-Priest-en-Jarez – France

2- Groupe sur l'immunité des muqueuses et agents pathogènes (Gimap) – Centre international de recherche en infectiologie (Ciri) – Université Claude-Bernard-Lyon-1 – Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm) U1111 – Unité mixte de recherche 5308 – Centre national de la recherche scientifique (CNRS) – École normale supérieure de Lyon – Faculté de médecine – Université Jean-Monnet-Saint-Étienne – Saint-Étienne – France

3- Haut Conseil de la santé publique – Ministère de la Santé et de la Prévention – Paris – France

4- Équipe opérationnelle d'hygiène (EOH) – Hôpitaux universitaires Henri-Mondor – Assistance publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP) – Créteil – France

5- Équipe d'accueil 7380 Dynamyc – Université Paris-Est Créteil – Faculté de médecine de Créteil – École nationale vétérinaire d'Alfort – Créteil – France

6- Service d'hygiène hospitalière – CHU de Montpellier – Montpellier – France

7- Équipe Pathogènes hydriques, santé, environnements – Unité mixte de recherche 5151 HydroSciences Montpellier – Unité de bactériologie – Unité de formation et de recherche des sciences pharmaceutiques et biologiques – Université de Montpellier – Montpellier – France

✉ **Pr Bruno Pozzetto** – Service des agents infectieux et d'hygiène – CHU de Saint-Étienne – Avenue Albert Raimond – 42270 Saint-Priest-en-Jarez – France – E-mail: bruno.pozzetto@univ-st-etienne.fr

Résumé

La pandémie de Covid-19 a rappelé le fardeau des pathologies respiratoires virales. Elle a permis un essor considérable du diagnostic virologique. L'irruption fin 2021 de la souche Omicron de SARS-CoV-2 puis de ses sous-variants a fait de la Covid-19 une virose désormais centrée sur la sphère respiratoire supérieure. Par ailleurs, la saison 2022-2023 a été marquée par la circulation prolongée d'un grand nombre de virus respiratoires dont le virus respiratoire syncytial et les virus grippaux A et B. À la suite de cette situation épidémiologique inédite, le Haut Conseil de la santé publique a arrêté en août 2023 une nouvelle doctrine tenant compte de l'expérience acquise au cours de la crise « Covid-19 » (mesures barrières, dépistage, vaccination...) et étendue à l'ensemble des viroses saisonnières. Après avoir rappelé ces éléments de contexte, cet article propose une revue des outils disponibles pour le diagnostic des viroses respiratoires tant à l'hôpital qu'en médecine de ville. Les tests génomiques occupent une place centrale avec l'avènement de tests rapides (une heure ou moins) permettant pour certains le dépistage simultané de plusieurs pathogènes (diagnostic multiplex ou syndromique). La place des tests antigéniques, avec leurs avantages et leurs limites, est également traitée. Sont abordés plus brièvement les apports des techniques de culture, de sérologie virale et d'évaluation de l'immunité cellulaire. La revue se conclut par quelques conduites diagnostiques à recommander en fonction du contexte épidémioclinique.

Mots-clés : Virose respiratoire – SARS-CoV-2 – Covid-19 – Virus influenza – Grippe – Virus respiratoire syncytial – Bronchiolite – Diagnostic génomique – Test multiplex – Diagnostic syndromique – Test antigénique – Test rapide – Sérologie – Épidémie saisonnière – Recommandation – Haut Conseil de la santé publique

Abstract

Virological diagnosis of respiratory infection in the post-Covid-19 era

The Covid-19 pandemic has highlighted the burden of viral respiratory pathologies. It has enabled considerable growth in virological diagnosis. The emergence at the end of 2021 of the Omicron strain of SARS-CoV-2 and then of its subsequent sub-variants made Covid-19 a viral disease now centered on the upper respiratory tract. Furthermore, the 2022-2023 season was marked by the prolonged circulation of a large number of respiratory viruses including respiratory syncytial virus and virus influenza A and B. Following this unprecedented epidemiological situation, the High Council for Public Health adopted in August 2023 a new doctrine taking into account the experience acquired during the Covid-19 crisis (barrier measures, testing, vaccination, etc.) and extending it to all seasonal viruses. After recalling these contextual elements, this paper offers a review of the tools available for the diagnosis of respiratory viruses both in hospitals and in community medicine. Genomic assays occupy a central place with the advent of rapid tests (one hour or less) allowing for some the simultaneous detection of several pathogens (multiplex or syndromic diagnosis). The place of antigenic tests, with their advantages and limitations, is also discussed. The contributions of culture techniques, viral serology and evaluation of cellular immunity are evoked more briefly. The review concludes with some diagnostic procedures to recommend depending on the epidemiological and clinical context.

Keywords: *Viral respiratory infection – SARS-CoV-2 – Covid-19 – Virus influenza – Flu – Respiratory syncytial virus – Bronchiolitis – Genomic diagnosis – Multiplex test – Syndromic diagnosis – Antigenic test – Rapid test – Serology – Seasonal epidemiology – Recommendation – French High Council of Public Health.*

Introduction

Dans cet article, nous souhaitons revenir sur le diagnostic virologique des viroses respiratoires. Ce choix éditorial est dicté par une triple actualité : il s'inscrit dans l'ère post-Covid-19¹ qui a représenté un tournant majeur dans l'épidémiologie mondiale du XXI^e siècle, avec l'émergence d'un nouveau coronavirus dénommé SARS-CoV-2² qui a eu un impact majeur en santé publique entre 2019 et 2023 ; il fait également écho à la quadruple épidémie qui a marqué la saison hivernale 2022-2023 avec la circulation concomitante ou successive de virus respiratoires d'importance majeure : les différents sous-variants de la souche Omicron de SARS-CoV-2 à l'origine de nombreux cas de Covid-19 présentant une très grande transmissibilité, même si la gravité des cas a été considérablement atténuée du fait d'un changement de tropisme de ce variant désormais essentiellement responsable d'infections du tractus respiratoire supérieur, le virus respiratoire syncytial (RSV) à l'origine d'une épidémie de grande ampleur aux deux extrêmes de la vie (enfants de moins de deux ans et personnes âgées fragiles), le virus influenza A avec circulation majoritaire de la souche A/H3N2³, et le virus influenza B, souche Victoria ; il s'appuie sur le changement de doctrine dans la surveillance, le diagnostic et la prise en charge des viroses respiratoires insufflé par les nouvelles recommandations du Haut Conseil de la santé publique (HCSP) édictées fin août 2023 [1], qui préconisent une approche syndromique des viroses respiratoires saisonnières.

2022-2023 : saison de tous les dangers pour les viroses respiratoires

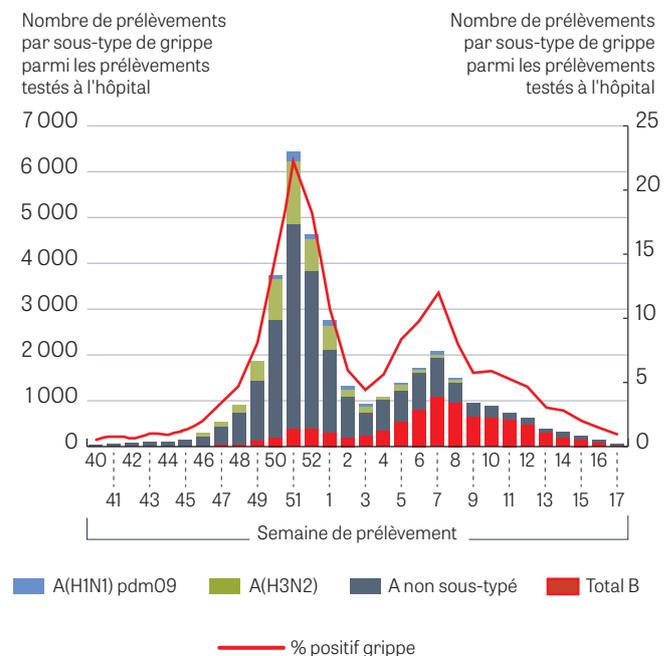
La saison automno-hivernale 2022-2023 étendue au printemps 2023 a été exceptionnelle en termes de circulation virale en France métropolitaine. L'épidémie de bronchiolite chez les jeunes enfants de moins de deux ans a débuté dès la première semaine d'octobre 2022, le pic ayant été atteint début décembre 2022 ; elle s'est achevée fin janvier 2023. Comme la saison précédente, le début d'épidémie a été précoce (six semaines plus tôt qu'observé en moyenne sur la période 2015-2020) et sa durée a été prolongée (seize semaines versus douze semaines en moyenne pendant la période 2015-2020). Quelque 73 000 passages pour bronchiolite ont été enregistrés dans les services d'urgence, dont plus d'un tiers a donné lieu à une hospitalisation [2]. Chez les personnes âgées et fragiles, le RSV est également à l'origine d'un nombre substantiel d'infections sévères du tractus respiratoire

inférieur, notamment chez les sujets porteurs de pathologies cardiovasculaires [3]. En parallèle, l'épidémie de grippe saisonnière a été exceptionnellement longue (plus de quatre mois) et précoce, avec deux vagues successives bien distinctes, la première avec un début dès mi-novembre 2022 et un pic fin décembre 2022, principalement due au virus influenza A (80% de souches A/H3N2 versus 20% de souches A/H1N1_{pdm09}⁴), et la seconde moins intense mais très prolongée qui a débuté fin janvier 2023 et s'est étirée jusqu'à début avril 2023. Cette seconde vague a été dominée par le virus influenza B souche Victoria, même si les deux souches de virus A ont continué à circuler à bas bruit (Figure 1). En termes de mortalité, environ 1500 décès directs⁵ ont été attribués à la grippe (1% de l'ensemble des décès de la période) [4], ce qui place la saison grippale

4- pdm09 : *pandemic disease 2009*.

5- Les décès directs correspondent aux décès pour lesquels la grippe est mentionnée comme facteur causal sur le certificat de décès. Dans le cadre de cette saison marquée par plusieurs épidémies simultanées, il est difficile d'évaluer la part de la grippe dans les causes indirectes de décès (surinfection bactérienne pulmonaire ou décompensation cardiorespiratoire), notamment chez les sujets âgés.

Figure 1 – Distribution des types et sous-types de virus grippaux en France métropolitaine, saison 2022-2023.



Source : Santé publique France. Bulletin épidémiologique grippe, semaine 18 : bilan préliminaire, saison 2022-2023 [Internet]. Saint-Maurice, 2023. Accessible à : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-et-infections-respiratoires/grippe/documents/bulletin-national/bulletin-epidemiologique-grippe-semaine-18-bilan-preliminaire-saison-2022-2023> (Consulté le 17-10-2023).

HxNy : Hémagglutinine de type x et neuraminidase de type y ; pdm09 : *pandemic disease 2009*.

1- Coronavirus disease 2019, maladie à coronavirus 2019.

2- *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*, virus du syndrome respiratoire aigu sévère de type 2.

3- Hémagglutinine de type 3 et neuraminidase de type 2.

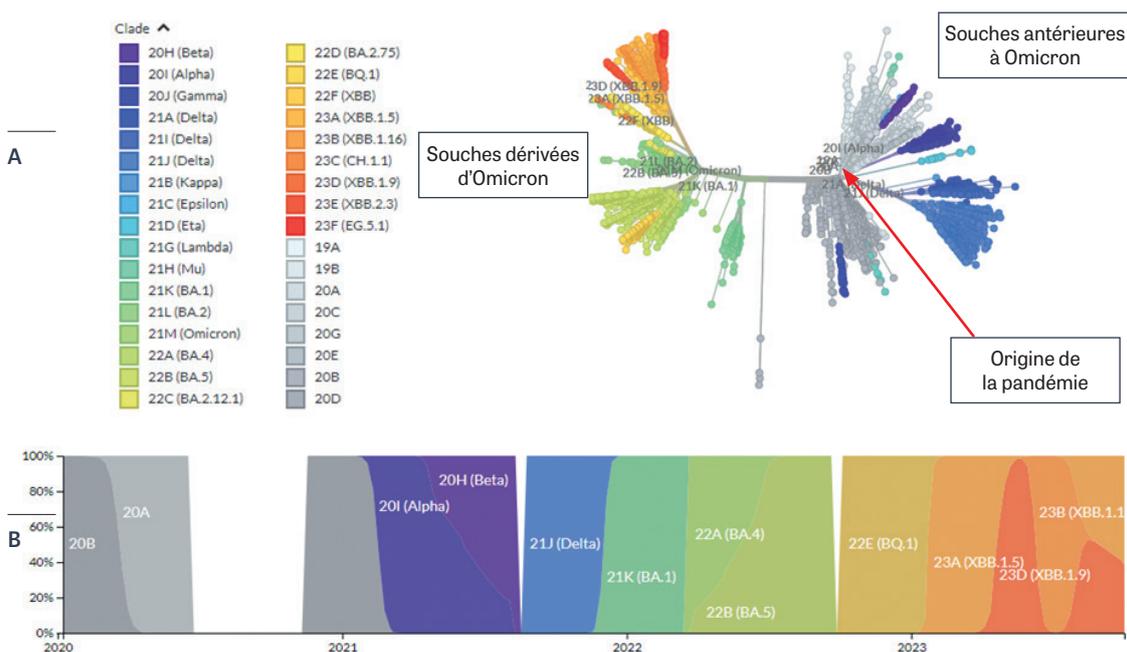
2022-2023 au même niveau que la saison 2016-2017, juste derrière la saison 2018-2019 qui avait été particulièrement meurtrière. Concernant le SARS-CoV-2, l'année 2022 a été marquée par l'hégémonie du variant Omicron qui, avec ses très nombreuses mutations dans la protéine de surface S (*spike* [épine] en anglais), a complètement éteint la circulation des autres variants (Figure 2A). Ce variant se caractérise par une grande transmissibilité mais surtout par un faible pouvoir pathogène, avec une majorité d'infections du tractus respiratoire supérieur du même type que celles observées avec les autres coronavirus saisonniers. Au cours des neuf premiers mois de 2022, on a assisté à une succession de « vaguelettes » épidémiques impliquant différents sous-variants de la lignée Omicron : BA.1, BA.4 et BA.5. À partir de l'automne 2022 a émergé le variant BQ.1, remplacé dès début 2023 par le variant XBB et ses sous-variants XBB.1.5, XBB.1.9 et XBB.1.1 (Figure 2B) [5]. En septembre-octobre 2023, une nouvelle vague se dessine avec une prédominance de souches « XBB.1.5-like » (dont la souche EG.5) et BA.2.75 ; une nouvelle souche dénommée BA.2.86 présentant onze mutations dans la protéine S est en train d'émerger et pourrait assez rapidement prendre le pas sur les précédentes si elle présente un avantage compétitif. Toutes ces souches ont en commun une faible pathogénicité (hors patients fra-

giles) mais un fort potentiel épidémique. À côté de ces virus respiratoires majeurs, d'autres virus (rhinovirus, entérovirus, virus parainfluenza, métapneumovirus...) ont circulé, avec même une épidémie bactérienne de *Mycoplasma pneumoniae* au cours de l'été 2023. La Figure 3 montre la circulation des virus respiratoires au CHU de Saint-Étienne au cours des six dernières saisons ; à l'instar de ce qui a été observé au niveau national, la saison 2022-2023 a été marquée par la circulation d'une grande variété de virus respiratoires qui masque sur la Figure 3 celle du virus SARS-CoV-2.

Nouvelle doctrine du Haut Conseil de la santé publique en matière de surveillance des viroses respiratoires

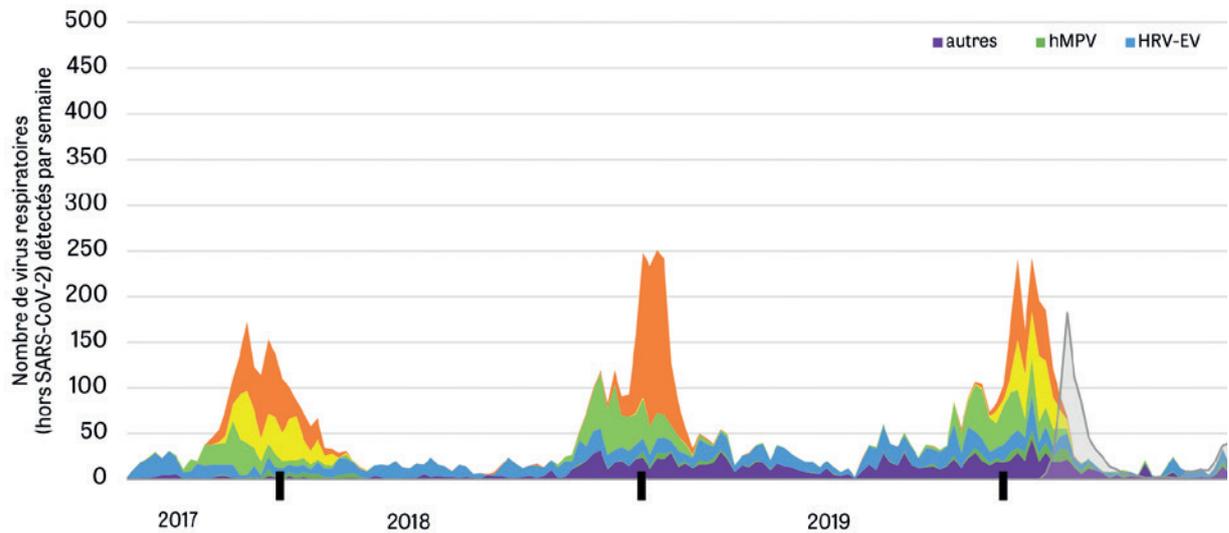
Dans son avis du 26 janvier 2023, le HCSP préconisait déjà de sortir de la situation exceptionnelle de crise de la Covid-19, de raisonner en conduite syndromique devant des manifestations cliniques évocatrices d'infection respiratoire virale, et de promouvoir dans la population générale de nouvelles règles « universelles d'hygiène respiratoire » post-Covid-19, en particulier en période épidémique hivernale [6]. Le 5 mai 2023, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) annonçait que « la Covid-19 ne constitu[ait] plus une urgence de santé publique de portée internationale », soulignant toutefois que « cela ne signif[iait] pas que la maladie

Figure 2 – A : Évolution phylogénétique des clades de SARS-CoV-2 depuis le début de la pandémie de Covid-19.
B : Circulation des variants de SARS-CoV-2 en France depuis le début de la pandémie.



D'après Nextstrain. Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 with subsampling focused globally since pandemic start. 2023. Accessible à : <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time?f&l=unrooted> (Consulté le 17-10-2023).
Coronavirus disease 2019, maladie à coronavirus 2019 ; SARS-CoV-2 : severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, virus du syndrome respiratoire aigu sévère de type 2.

Figure 3 – Circulation des virus respiratoires au cours des six dernières saisons (de 2017-2018 à 2022-2023) au centre hospitalier universitaire de Saint-Étienne.



Source : données personnelles, Dr Sylvie Pillet.

Remarquer la circulation quasi-exclusive du virus SARS-CoV-2 en 2020-2021 qui contraste avec la multiplicité des virus qui ont circulé en 2022-2023.

Autres : virus parainfluenza, coronavirus saisonniers, bocavirus humains ; hMPV : métapneumovirus humain ; HRV-EV : rhinovirus humains-entérovirus ; RSV : virus respiratoire syncytial ; SARS-CoV-2 : *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*, virus du syndrome respiratoire aigu sévère de type 2.

Tableau I – Principaux virus impliqués dans les syndromes respiratoires aigus.*

Syndrome respiratoire	Principaux virus en cause	Autres virus
Rhinite	hRV, coronavirus saisonniers, SARS-CoV-2	Virus influenza, RSV, PIV, entérovirus, hMPV, AdV
Pharyngite	hRV, AdV, RSV, virus influenza, SARS-CoV-2	Tous les virus respiratoires
Laryngite	PIV	Virus influenza, RSV, AdV
Bronchite	hRV, PIV	Virus influenza, RSV, hMPV, coronavirus saisonniers
Bronchiolite	RSV, hRV, hMPV	Virus influenza, PIV, AdV, hRV, entérovirus
Pneumonie	Virus influenza, RSV, AdV, MERS-CoV, SARS-CoV-2	PIV, hMPV...
Syndrome pseudo-grippal	Virus influenza, SARS-CoV-2	PIV, AdV
Asthme aigu grave	RSV	hRV, virus influenza

*En dehors des pneumonies qui caractérisaient les formes graves dues aux souches ancestrales, les infections à SARS-CoV-2 de l'ère post-pandémique peuvent prendre la forme de n'importe quel syndrome respiratoire.

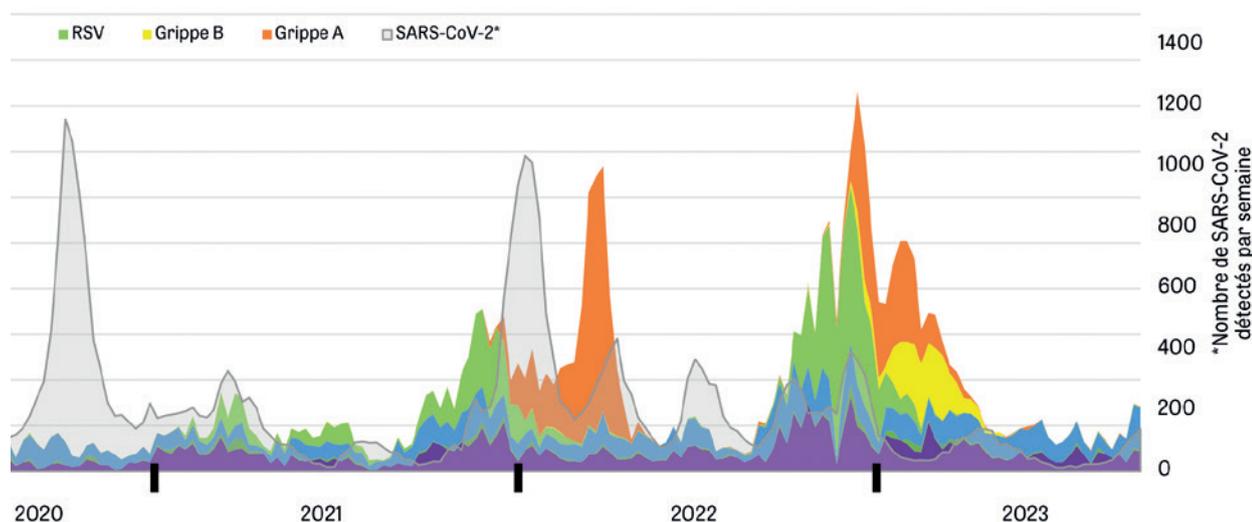
AdV : adénovirus ; hMPV : métapneumovirus humain ; hRV : rhinovirus humain ; MERS-CoV : *Middle East respiratory syndrome-related coronavirus*, coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient ; PIV : virus parainfluenza 1-4 ; RSV : virus respiratoire syncytial ; SARS-CoV-2 : *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*, virus du syndrome respiratoire aigu sévère de type 2.

Tableau II – Virus respiratoires à rechercher en fonction de l'âge.

	Première intention (selon contexte épidémique)	Deuxième intention
Nourrisson	SARS-CoV-2, RSV, PIV-3, hRV, virus influenza, hMPV, AdV	PIV-1, PIV-2, PIV-4, coronavirus saisonniers, HBoV, entérovirus
Enfant	SARS-CoV-2, virus influenza, AdV, hRV, PIV-1, PIV-2	RSV, PIV-3, PIV-4, coronavirus saisonniers, hMPV, HBoV entérovirus
Adolescent, adulte	SARS-CoV-2, virus influenza, AdV, hRV	Virus varicelle-zona (VZV), coronavirus saisonniers
Personne âgée	SARS-CoV-2, RSV, virus influenza, hRV	AdV, PIV, hMPV, coronavirus saisonniers

D'après Botterel F, Farfour E, Pozzetto B. Infections broncho-pulmonaires (hors tuberculose et mucoviscidose). In: Société française de microbiologie. Référentiel en microbiologie médicale (Rémic) 7^e édition. Paris, 2022. p. 249-264.

AdV : adénovirus ; HBoV : bocavirus humain ; hMPV : métapneumovirus humain ; hRV : rhinovirus humain ; PIV : virus parainfluenza 1-4 ; RSV : virus respiratoire syncytial ; SARS-CoV-2 : *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*, virus du syndrome respiratoire aigu sévère de type 2.



n'«était» plus une menace mondiale » [7]. Le rôle conjugué de l'immunité collective induite par la répétition des vaccinations et des infections naturelles et de la diminution du pouvoir pathogène des souches appartenant au lignage Omicron a transformé l'infection par le virus SARS-CoV-2 en une virose respiratoire moins agressive que celle liée à la souche historique, et à gravité moindre à l'exception des cas survenant chez des sujets très fragilisés ou fortement immunodéprimés. Selon le nouvel avis du HCSP daté du 31 août 2023 [1], il semble dorénavant essentiel de proposer des mesures sanitaires adaptées à l'ensemble des virus à tropisme respiratoire puisqu'ils partagent de grandes similitudes dans leurs modes de transmission, leurs présentations cliniques, les personnes à risque de forme grave et leurs mesures de prévention. Nous reproduisons ici les deux tableaux disponibles dans cet avis relatif aux différents virus à tropisme respiratoire à suspecter, le premier en fonction des manifestations cliniques et le deuxième, adapté du référentiel en microbiologie médicale (Rémic) 2022 [8], en fonction de l'âge (**Tableaux I et II**). Cet avis définit différents niveaux de risque épidémique – faible (absence d'épidémie), modéré (phases pré ou post-épidémiques) et élevé (épidémie avérée) – et propose un certain nombre de matrices décisionnelles principalement destinées aux soignants et aux personnes en contact avec des personnes malades ou fragiles, auxquelles les lecteurs et lectrices intéressés sont enjoins de se reporter. L'objet de ces tableaux est de définir les mesures de prévention et de surveillance à adopter en fonction de la position de la personne concernée dans la chaîne de soins et du niveau de risque épidémique. Dans le cadre de cet article, nous ferons essentiellement référence aux recommandations du HCSP d'ordre diagnostique.

Le diagnostic direct des virus respiratoires par détection génomique

Tests disponibles

Les tests de détection génomique basés sur la technique de RT-PCR⁶ quantitative ou des techniques équivalentes sont recommandés de façon préférentielle pour le diagnostic des infections respiratoires sévères chez les patients hospitalisés en raison de leur meilleure sensibilité [1]. Il existe des tests commerciaux pour la détection de tous les virus mentionnés dans les tableaux, de façon isolée (tests monoplex) ou associée (tests multiplex). Le niveau d'automatisation et la rapidité de réalisation sont très variables d'un test à un autre. Il existe une grande variété de tests multiplex : tests biplex associant deux des trois virus SARS-CoV-2, RSV, virus influenza ; tests triplex associant SARS-CoV-2, RSV et virus influenza ; tests quadruplex associant les mêmes virus mais avec différenciation des virus grippaux A et B ; tests multiplex qui proposent des panels d'agents infectieux beaucoup plus étendus, avec d'autres virus en plus des précédents (méta-pneumovirus, adénovirus, rhinovirus-entérovirus, virus parainfluenza, coronavirus saisonniers...), des bactéries atypiques (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*...), voire des bactéries pyogènes. Certains tests génomiques permettent un diagnostic rapide, de l'ordre d'une à deux heures, voire moins (pour l'infection à SARS-CoV-2 [9]) ; ils utilisent des automates qui enchaînent la phase d'extraction des acides nucléiques et la phase d'amplification. Certains de ces automates peuvent être délocalisés dans un *point of care*⁷ (POC) ou dans un service de soins (urgences, pédiatrie, gériatrie...).

6- Real time polymerase chain reaction, réaction de polymérisation en chaîne en temps réel.

7- Site de biologie délocalisée plus proche du patient.

Choix du test

Le choix du test à effectuer repose sur plusieurs paramètres : tableau clinique et niveau de gravité présentés par le patient, âge du patient, situation épidémique, diagnostic de première ou deuxième intention (Tableau II), prix de revient du test, modalités d'organisation du laboratoire... De façon schématique, on peut distinguer différentes situations :

- patient hospitalisé présentant un tableau clinique typique en situation épidémique : un test monoplex peut suffire (par exemple tableau fébrile en période de grippe ou bronchiolite en phase d'épidémie de RSV) ; en cas de négativité du test monoplex, un test multiplex étendu est recommandé en deuxième intention ;
- patient hospitalisé présentant une infection respiratoire aiguë hors contexte épidémique franc : un test multiplex est indiqué comportant au minimum SARS-CoV-2, RSV et virus influenza (sous réserve de circulation avérée pour les deux derniers) ; en cas de pneumonie ou de décompensation de broncho-pneumopathie obstructive (BPCO), un test multiplex étendu est recommandé d'emblée ;
- patient admis aux urgences et porteur d'une infection respiratoire aiguë de gravité intermédiaire : un test multiplex « rapide » positif pour un virus respiratoire peut être déterminant pour éviter une hospitalisation ou une antibiothérapie inutile, ou encore pour prescrire un traitement spécifique adapté (nirmatrelvir et ritonavir [Paxlovid®, Pfizer, New York, NY, États-Unis] en cas d'infection à SARS-CoV-2, oseltamivir [Tamiflu®, Roche, Bâle, Suisse] ou autre en cas de grippe à la phase aiguë, ou encore macrolides en cas de pneumopathie à bactérie « atypique »).

Il est important de rappeler que la mise en place de mesures d'isolement du patient porteur d'une infection respiratoire aiguë ne doit pas attendre le résultat des tests virologiques.

Par ailleurs, les tests de détection génomique peuvent rester positifs même après résolution des signes cliniques, d'où l'importance de considérer la valeur de C_T (*cycle threshold*⁸) qui permet d'évaluer grossièrement la charge virale lorsque cette valeur est disponible. Dans le cas du SARS-CoV-2, la Société française de microbiologie a défini pour chaque test des valeurs de C_T permettant de refléter la contagiosité du patient [10] ; une valeur de C_T élevée permet de lever l'isolement et de transférer le patient. Par ailleurs, pour les infections symptomatiques à SARS-CoV-2 de lignage Omicron hors immunodépression, il a été montré que les patients présentant une infection récidivante à SARS-CoV-2 ne sont plus contagieux au-delà du dixième jour après le début des symptômes [11]. Pour les soignants vaccinés présentant une infection symptomatique à SARS-CoV-2 en période d'intense circulation virale, une éviction prolongée est susceptible de provoquer

une forte tension en milieu de soins ; c'est pourquoi le HCSP a autorisé une reprise de l'activité dès J5-J7 sous réserve d'une négativité des symptômes depuis 48 heures sans qu'il soit nécessaire de refaire un test de RT-PCR, tout en maintenant le port du masque et le strict respect des mesures barrières [12].

Cas des co-infections

Un dernier point à discuter est celui des co-infections virales, comme cela a été fréquemment observé au cours de l'hiver dernier où plusieurs épidémies se sont télescopées. Une revue de la littérature publiée entre janvier et mars 2020 a analysé la prévalence des co-infections respiratoires virales et par bactéries atypiques chez les sujets atteints de Covid-19 [13]. Dix-huit études rétrospectives de cohorte et une étude prospective ont été retenues, rassemblant 1880 sujets infectés par le SARS-CoV-2. Le taux de co-infection variait entre 11,6% (toutes les études) et 16,8% (dans les études où 100% des sujets ont été testés pour d'autres pathogènes). Les co-pathogènes le plus souvent retrouvés étaient *Mycoplasma pneumoniae* (59 cas), un virus grippal A (34 cas) ou B (19 cas), *Chlamydia pneumoniae* (24 cas), RSV (18 cas), un rhino-entérovirus (11 cas), et un coronavirus saisonnier (10 cas). En cas de positivité de plusieurs cibles, la charge virale appréciée par la valeur de C_T est déterminante : le virus responsable du tableau clinique est très vraisemblablement celui dont la valeur de C_T est la plus faible ; si plusieurs virus présentent une charge virale élevée, on peut conclure à une vraie co-infection. Le HCSP rappelle que les stratégies multiplex nécessitent une évaluation médico-économique approfondie afin de mieux définir leurs indications [1]. On attend avec impatience les conclusions de la Haute Autorité de santé (HAS) dans ce domaine afin de préciser dans quelles situations ces stratégies méritent d'être recommandées et prises en charge par l'assurance maladie. Signalons enfin que les solutions techniques proposées par les industriels sont de plus en plus sophistiquées et que les progrès spectaculaires obtenus pour les tests multiplex en termes de performances, d'automatisation et de rapidité sont très prometteurs, sous réserve de bien définir leurs indications. Le coût de ces tests, qui constitue encore un obstacle à leur utilisation plus étendue, devrait baisser dans l'avenir, comme cela a été observé pour d'autres technologies (anticorps monoclonaux, tests PCR monoplex, séquençage...) autrefois réservées à la recherche hospitalière.

Diagnostic direct des viroses respiratoires par tests antigéniques : quand les faire ? Pour quels virus ? Pour quels patients ?

Infection à SARS-CoV-2

La pandémie de Covid-19 a consacré, bien que tardivement, l'intérêt des tests antigéniques pour le diagnostic « instantané » de l'infection à SARS-CoV-2. Basés principalement sur le principe de l'immunochromatogra-

8- Seuil de cycle.

phie, ces tests ont permis, au plus fort de la pandémie (de fin 2020 à fin 2021), de décupler la puissance de dépistage et de permettre à la population générale de s'approprier le contrôle de l'infection. L'ouverture de la réalisation de ces tests aux centres de soins, aux pharmacies de ville, aux écoles ou encore aux particuliers a « démocratisé » le diagnostic de l'infection, surtout quand la matrice utilisée (prélèvement nasal antérieur, salive...) s'avérait moins invasive que le classique écouvillonnage nasopharyngé. La faible sensibilité de ces tests (de l'ordre de 1 000 à 10 000 fois moindre que celle des tests génomiques) est devenue un atout dans le sens où leur fenêtre de positivité est bien corrélée au pic de charge virale donc à la contagiosité du sujet testé. C'est pourquoi l'indication des tests antigéniques SARS-CoV-2 concerne essentiellement les formes symptomatiques bénignes ambulatoires au pic des symptômes; ils sont particulièrement adaptés pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2 chez des personnes sans facteur de risque en contact avec des patients fragiles ou immunodéprimés. Une étude récente a montré que, pour l'infection à SARS-CoV-2 à l'ère Omicron, où la plupart des individus présentent une immunité ancienne (naturelle ou vaccinale), le pic de charge virale est atteint au quatrième jour après le début des symptômes, alors que, pour la grippe, ce pic est atteint au deuxième jour; cela peut expliquer la négativité de certains tests antigéniques SARS-CoV-2 s'ils sont effectués trop précocement [14]. La distinction entre les autotests, les tests rapides d'orientation diagnostique (Trod) et les tests antigéniques pratiqués en laboratoire d'analyse est essentiellement réglementaire. Sous l'angle technologique, il s'agit des mêmes tests. Les auto-tests sont effectués par le patient et sont à sa charge financière; leur moindre sensibilité apparente est liée à l'auto-prélèvement, qui est souvent moins fiable que le prélèvement effectué par un tiers. Les Trod sont sous la responsabilité d'un professionnel de santé non-biologiste; en cas de positivité, ils doivent en principe être contrôlés par un test diagnostique quel qu'il soit. Les tests antigéniques réalisés en laboratoire sont soumis à toutes les exigences d'un test biologique standard et notamment aux contrôles de qualité réglementaires.

Autres tests rapides

Des tests immunochromatographiques rapides sont également disponibles pour d'autres virus respiratoires, essentiellement les virus influenza et le RSV. Ces techniques sont habituellement très spécifiques, mais leur sensibilité reste médiocre par rapport aux techniques moléculaires de référence, allant, pour la grippe, de 50% à 85% selon le type de test [15]. En fait, la sensibilité de ces tests est très dépendante de la charge virale, beaucoup plus élevée dans les infections à RSV que dans les infections grippales, de même que dans les infections du jeune enfant par rapport à celles de l'adulte [16,17]. Dans un récent avis, la HAS a conclu que

les tests rapides n'avaient pas d'intérêt en population générale à titre individuel [18]. En revanche, elle estime que, sous certaines conditions, la recherche rapide antigénique de certains virus respiratoires (Trod grippe et Covid-19, ou Trod grippe, Covid et RSV) pourrait présenter un intérêt médical à l'échelon populationnel (impact de santé publique) qui justifierait une prise en charge par la collectivité du fait d'un bénéfice potentiel pour le système de santé, les soignants, les patients et leurs familles en période hivernale, notamment en termes d'économie de traitements antibiotiques inappropriés ou de passages aux urgences non justifiés.

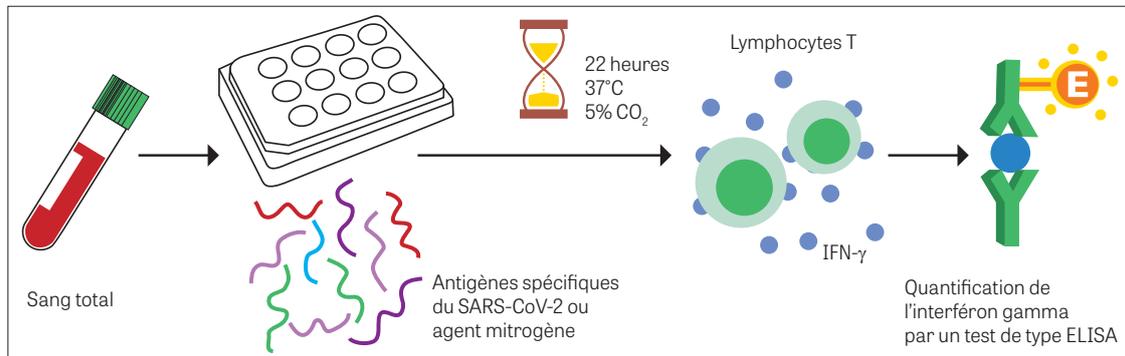
Autres tests à visée diagnostique: culture, sérologie, évaluation de l'immunité cellulaire...

Depuis l'avènement des tests génomiques ou antigéniques, la culture virale sur cellules permissives a pratiquement disparu des laboratoires d'analyse. Cependant la culture relativement facile du SARS-CoV-2 (bien que nécessitant des conditions de confinement de niveau 3) a permis de montrer que, hors immunodépression, la « cultivabilité », qui est probablement le meilleur marqueur de substitution pour évaluer l'infectiosité d'un prélèvement, est essentiellement corrélée à la charge virale et à la date du prélèvement par rapport au début des symptômes [19]. La sérologie des viroses respiratoires à visée diagnostique a été complètement abandonnée, au profit des tests directs décrits précédemment. En revanche, elle est très intéressante pour évaluer la production d'anticorps et notamment la production d'anticorps neutralisants en réponse aux infections naturelles ou aux immunisations vaccinales. Ces outils sérologiques sont essentiels pour évaluer le bénéfice des nouvelles approches thérapeutiques (anticorps monoclonaux « large spectre ») ou vaccinales utilisées contre le SARS-CoV-2, les virus influenza ou le RSV. Concernant le SARS-CoV-2, il est théoriquement possible de distinguer une infection naturelle d'une infection vaccinale en testant les anticorps dirigés contre la nucléocapside (antigène N absent du vaccin) des anticorps anti-S (*spike*); cependant, les anticorps anti-N⁹ sont parfois de courte durée, surtout lors d'infections bénignes ou asymptomatiques. Les anticorps anti-S sont plus durables et mieux corrélés avec la protection puisque la plupart des anticorps neutralisants sont dirigés contre cette protéine. Il est possible, à partir d'une sérologie anti-S, de déterminer un taux de BAU (*binding antibody units*¹⁰) par millilitre, qui est un reflet du niveau de protection (même s'il est impossible de fixer un taux protecteur car cette valeur évolue avec les variants, les réponses individuelles, les techniques utilisées et le temps écoulé depuis la dernière exposition naturelle ou vaccinale). Outre l'immunité humorale, la protection

9- Dirigés contre la protéine de nucléocapside.

10- Unités d'anticorps de liaison.

Figure 4 – Principe du test IGRA (*interferon gamma release assay**) utilisé pour la mesure de l'immunité cellulaire mémoire anti-SARS-CoV-2.



Une partie de l'échantillon est soumise à l'agent mitogène qui est un activateur non spécifique des lymphocytes T et qui permet de vérifier que les lymphocytes sont activables (témoin positif). La quantité d'interféron gamma produite est proportionnelle au niveau de la réponse cellulaire vis-à-vis de l'antigène testé.

* Test de libération d'interféron gamma.

ELISA : *enzyme-linked immunosorbent assay*, test immuno-enzymatique sur support solide ; IFN-γ : interféron gamma ; SARS-CoV-2 : *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*, virus du syndrome respiratoire aigu sévère de type 2.

contre les infections repose en grande partie sur l'immunité cellulaire médiée par les lymphocytes T. L'immunité cellulaire, malgré son rôle essentiel dans la protection à long terme (mémoire immunitaire), est beaucoup plus difficile à mesurer en pratique que l'immunité basée sur la production d'anticorps spécifiques. Avec le SARS-CoV-2, il a été développé des tests réalisables en routine, basés sur la capacité de lymphocytes T spécifiques du SARS-CoV-2 à être activés lorsqu'ils ont été préalablement générés par une infection naturelle ou vaccinale ; si ces cellules sont présentes, un simple contact avec les antigènes à tester (ici des composants du SARS-CoV-2) est capable de les activer et de leur faire produire de l'interféron gamma qu'il est ensuite facile de mesurer par un test de type ELISA¹¹ (Figure 4) [20].

Conclusion

Même si un grand nombre de personnes, y compris dans le monde de la santé, souhaitent revenir aux pratiques « préandémiques », d'autres, dont une majorité d'hygiénistes, arguent de l'efficacité des mesures barrières pour les étendre en milieu de soins à l'ensemble des viroses respiratoires, au moins en période épidémique [21]. Il en va de même pour le diagnostic des viroses respiratoires, qui ne se pratiquera plus comme à l'ère pré-Covid-19 et s'adaptera à l'épidémiologie de la phase Omicron tout en bénéficiant de l'apport des tests multiplex. À la suite des recommandations du HCSP, on peut, de façon très schématique et sous réserve d'une nouvelle évolution notable de la situation épidémiologique, proposer quelques règles diagnostiques simples pour la gestion des viroses respiratoires chez les patients, les soignants et la population générale, tant en structure de santé qu'en pratique « de ville » :

- patient hospitalisé présentant un syndrome respiratoire : test génomique monoplex ou multiplex, en fonction du contexte clinico-épidémique, avec réalisation d'un panel étendu en deuxième intention en cas de négativité des premiers tests ; chez l'enfant, des tests antigéniques peuvent suffire en première intention, avec nécessité de recourir aux tests génomiques en cas de réponse initiale négative ;
- patient consultant aux urgences pour syndrome respiratoire : si le tableau est peu inquiétant, on peut se limiter à un diagnostic clinique ; en cas de décision d'hospitalisation ou d'hésitation sur la décision à prendre, le patient doit bénéficier d'un test diagnostique avec les mêmes remarques que dans le cas précédent ; cette démarche a pour objectif d'éviter les traitements antibiotiques abusifs et d'autres investigations diagnostiques inutiles en cas de résultat positif ;
- patient non-soignant consultant en ambulatoire pour syndrome respiratoire : la plupart du temps, un diagnostic étiologique n'est pas nécessaire, sauf s'il existe une discussion de traitement antibiotique (pneumopathie, décompensation de BPCO, terrain cardiovasculaire ou diabétique...) ; dans ce dernier cas, sous réserve d'un résultat rapide, un test génomique plus ou moins étendu peut être utile pour identifier l'agent responsable et éviter une antibiothérapie inutile (ou l'adapter) ;
- soignant cas contact d'un sujet porteur d'une virose respiratoire avérée ou présentant un syndrome respiratoire banal : si le tableau clinique est compatible avec le port du masque en continu, on peut surseoir au test diagnostique (en prenant soin de s'isoler aussi pour les pauses et les repas) ; dans tous les autres cas, un test génomique est souhaitable, à adapter en fonction du contexte clinico-épidémiologique, avec réalisation d'un panel étendu en deuxième intention en cas de négativité des premiers tests ;

11- *Enzyme-linked immunosorbent assay*, essai d'immuno-absorption enzymatique.

- sujet cas contact hors soignant asymptomatique : pas d'indication de test diagnostique ; porter un masque chirurgical pendant cinq à sept jours, éviter les visites à des sujets fragiles ;
- suivi des patients infectés et placés en isolement : si le sujet est immunocompétent et vacciné, l'isolement peut être levé cinq à sept jours après le début des symptômes pour les soignants et après une dizaine de jours pour les autres patients sans nécessité de répéter le test diagnostique ; si le sujet est immunodéprimé, la décroissance de la charge virale doit être suivie par RT-PCR.

En conclusion, les nouvelles modalités diagnostiques des viroses respiratoires méritent d'être évaluées avec une méthodologie stricte afin de définir plus précisément quels agents pathogènes doivent être recherchés en priorité, chez quels patients et selon quelles modalités de remboursement par l'assurance maladie, dans le but de rationaliser la prise en charge des viroses respiratoires dans leur diversité, de mieux appliquer les gestes barrières et d'éviter les traitements antibiotiques inutiles. ■

Références

- 1- Haut Conseil de la santé publique. Prévention des infections respiratoires virales (incluant la mise à jour des avis Covid-19) [Internet]. Paris, 2023. Accessible à : <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=1343> (Consulté le 17-10-2023).
- 2- Santé publique France. Bronchiolite : bilan de la surveillance hivernale 2022-2023 [Internet]. Saint-Maurice, 2023. Accessible à : <https://www.santepubliquefrance.fr/les-actualites/2023/bronchiolite-bilan-de-la-surveillance-hivernale-2022-2023> (Consulté le 17-10-2023).
- 3- Belongia EA, King JP, Kieke BA, et al. Clinical features, severity, and incidence of RSV illness during 12 consecutive seasons in a community cohort of adults ≥ 60 years old. *Open Forum Infect Dis* 2018;5:ofy316.
- 4- Santé publique France. Bulletin épidémiologique grippe, semaine 18 : bilan préliminaire, saison 2022-2023 [Internet]. Saint-Maurice, 2023. Accessible à : <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-et-infections-respiratoires/grippe/documents/bulletin-national/bulletin-epidemiologique-grippe-semaine-18-bilan-preliminaire-saison-2022-2023> (Consulté le 17-10-2023).
- 5- Nextstrain. Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 with subsampling focused globally since pandemic start. 2023. Accessible à : <https://nextstrain.org/ncov/gisaid/global/all-time?f&l=unrooted> (Consulté le 17-10-2023).
- 6- Haut Conseil de la santé publique (HCSP). Courrier du 26 janvier 2023 relatif à l'évolution des mesures d'isolement des personnes infectées par le SARS-CoV-2. Paris: HCSP, 2023. 4 p. Accessible à : <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=1271> (Consulté le 17-10-2023).
- 7- Organisation mondiale de la santé. Allocution liminaire du directeur général de l'OMS lors du point presse sur la Covid-19 [Internet]. Genève, 2021. Accessible à : <https://www.who.int/fr/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---7-october-2021> (Consulté le 17-10-2023).
- 8- Botterel F, Farfour E, Pozzetto B. Infections broncho-pulmonaires (hors tuberculose et mucoviscidose). In: Société française de microbiologie. *Référentiel en microbiologie médicale (Rémic) 7e édition*. Paris: SFM, 2022. p. 249-264.
- 9- Pozzetto B, Delolme M, Rigault J, et al. Les tests de diagnostic virologique de la Covid-19. *Rev Biol Med* 2021;359:17-28.
- 10- Société française de microbiologie. Avis du 25 septembre 2020 de la Société française de microbiologie (SFM) relatif à l'interprétation de la valeur de CT (estimation de la charge virale) obtenue en cas de RT-PCR SARS-CoV-2 positive sur les prélèvements cliniques réalisés à des fins diagnostiques ou de dépistage. Version 4_14/01/2021 mise à jour. Paris: SFM, 2021. 13 p. Accessible à : https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2021/01/Avis-SFM-valeur-Ct-excre%CC%81tion-virale-Version-def-14012021_V4.pdf (Consulté le 17-10-2023).
- 11- Dzieciolowska S, Charest H, Roy T, et al. Timing and predictors of loss of infectivity among healthcare workers with mild primary and recurrent COVID-19: a prospective observational cohort study. *Clin Infect Dis* 2023;ciad535.
- 12- Haut Conseil de la santé publique. Variant Omicron du SARS-CoV-2 : propositions de contact tracing [Internet]. Paris, 2022. Accessible à : <https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=1136> (Consulté le 17-10-2023).
- 13- Davis B, Rothrock AN, Swetland S, et al. Viral and atypical respiratory co-infections in Covid-19: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Emerg Physicians Open* 2020;1(4):533-548.
- 14- Frediani JK, Parsons R, McLendon KB, et al. The new normal: delayed peak SARS-CoV-2 viral loads relative to symptom onset and implications for COVID-19 testing programs. *Clin Infect Dis* 2023;ciad582.
- 15- Chartrand C, Leeflang MMG, Minion J, et al. Accuracy of rapid influenza diagnostic tests: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 2012;156(3):500-511.
- 16- Cantais A, Mory O, Plat A, et al. Analytical performances of the BD Veritor™ System for the detection of respiratory syncytial virus and virus influenzae A and B when used at bedside in the pediatric emergency department. *J Virol Methods* 2019;270:66-69.
- 17- Cantais A, Mory O, Plat A, et al. Impact of bedside diagnosis of influenza in the paediatric emergency ward. *Clin Microbiol Infect* 2019;25(7):898-903.
- 18- Haute Autorité de santé. Intérêt des tests rapides d'orientation diagnostique (Trod) antigéniques Covid/grippe et Covid/grippe/VRS en ville [Internet]. Saint-Denis, 2023. Accessible à : https://www.has-sante.fr/jcms/p_3444489/fr/interet-des-tests-rapides-d-orientation-diagnostique-trod-antigeniques-covid/grippe-et-covid/grippe/vrs-en-ville (Consulté le 17-10-2023).
- 19- Jaafar R, Aherfi S, Wurtz N, et al. Correlation between 3790 quantitative polymerase chain reaction-positives samples and positive cell cultures, including 1941 severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 isolates. *Clin Infect Dis* 2021;72(11):e921. Published correction in: *Clin Infect Dis* 2021;73(9):1745.
- 20- Mouton W, Compagnon C, Saker K, et al. Specific detection of memory T-cells in Covid-19 patients using standardized whole-blood interferon gamma-release assay. *Eur J Immunol* 2021;51(12):3239-3242.
- 21- Klompas M, Baker MA, Rhee C, et al. Strategic masking to protect patients from all respiratory viral infections. *N Engl J Med* 2023;389(1):4-6.

Citation

Pozzetto B, Decusser JW, Romano-Bertrand S. Diagnostic virologique des infections respiratoires dans la phase post-Covid-19. *Hygiènes* 2023;31(5):403-411.

Remerciements : les auteurs expriment leurs plus vifs remerciements au Dr Sylvie Pillet pour avoir fourni la figure 3 à partir des données épidémiologiques du CHU de Saint-Étienne et au Dr Sylvie Floreani du HCSP pour sa relecture soigneuse du manuscrit.

Historique

Reçu 10 octobre 2023 - Accepté 16 octobre 2023 - Publié 8 novembre 2023.

Financement : les auteurs déclarent ne pas avoir reçu de financement.

Liens d'intérêt : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt.