

Impact clinique de la perte de la sensibilité de regroupement (*pooling*) des échantillons sur la détection des cas de COVID-19



LABORATOIRE DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC

Octobre 2020

Sommaire

Stratégie de regroupement (<i>pooling</i>) échantillons	1
Conclusion	3

Stratégie de regroupement (*pooling*) échantillons

Un éditorial dans le NEJM octobre 2020 suggère que dans une situation de pandémie, il est plus avantageux de tester souvent et obtenir un résultat rapidement (pas de *backlog*) même avec un test moins sensible que de tester moins souvent ou avoir un *backlog* avec un test très sensible. La stratégie de regroupement (*pooling*) des échantillons permet à la fois d'augmenter considérablement la capacité analytique (nombre et fréquence des tests) et de diminuer la consommation des réactifs. Bien que nos études de validation démontrent que le *pooling* d'échantillons diminue légèrement la sensibilité de nos tests en comparaison de l'échantillon unique (Tableau 1), l'impact clinique sur l'échec de la détection de patient est à notre point de vue marginal.

Tableau 1. Estimation de la limite de détection pour chacune des méthodes utilisées dans le réseau selon le niveau de *pooling*¹.

Méthode	Pas de pool	Pool de 4 (perte de 2Ct)	Pool de 8 (perte de 3 Ct)
	LOD copies/ml ²	LOD copies/ml	LOD copies/ml
Maison LSPQ	360	1440	2880
Abbott RealTime	22,5	90	180
AllPlex α Seegene Gène E	90	360	720
Cobas α 6800/8800 Gène E	45	180	360
Simplexa Diasorin Gène S	180	720	1440
GeneXpert Cepheid Gène E	22,5	90	180
ThermoFisher TaqPath Gène ORF1ab	45*	180*	360*
BD Max**	40	160	320

*Valeur estimée

** Valeur du fabricant

On peut constater que la limite de détection en *poolant* sur certaines méthodes équivaut à la limite de détection du protocole maison LSPQ non *poolé* (Abbott M2000, Cepheid Cobas, GeneXpert, thermofisher et Ridagene), l'impact médical de la perte de sensibilité est donc minime pour ces méthodes.

Il faut aussi savoir que la limite de détection décrite est la quantité de copies RNA/ml, ce qui amène une surestimation d'un facteur de 20 à 100 fois la véritable quantité de virus présents dans le spécimen³ étant donné que les ARN messagers (de la cible choisie) du virus sont aussi détectés.

Impact clinique sur l'échec de la détection de patient présentant des charges virales inférieures à 3000 copies ARN/ml (limite de détection la plus élevée obtenue en *poolant* voir tableau 1) :

- Au cours de l'infection par le SRAS-CoV-2, la transmission est plus fréquente au début de l'infection lorsque la charge virale est élevée et ainsi l'impact de la perte légère de sensibilité du test à ce stade d'infection est négligeable.
- Il est possible de manquer certains patients qui ont des charges virales basses en tout début d'excrétion virale. Lors de tests au hasard (avec une faible probabilité pré-test), il est peu probable de rencontrer ce type de situation (durée estimée de 1 jour⁴) compte tenu de l'augmentation très rapide de l'excrétion virale en début de maladie. De plus, pour les cas suspects de COVID-19 ou des contacts symptomatiques, il est recommandé dans le libellé du résultat de répéter le test si la suspicion clinique de COVID-19 persiste.

¹ Basé sur le rapport du panel de vérification de la limite de détection du RT-PCR SRAS-CoV-2, LSPQ juillet 2020.

² À noter que les essais peuvent détecter, mais de façon inconstante, des concentrations plus faibles que la limite de détection établie

³ Soren Alexandersen, Anthony Chamings, and Tarka Raj Bhatta. SARS-CoV-2 genomic and subgenomic RNAs in diagnostic samples are not an indicator of active replication. medRxiv, 2020.

⁴ Wölfel, R.- *Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019.*- Nature 28 may 2020, vol 581; pp 465-469.

- Un groupe français a démontré une corrélation inverse entre la valeur du cycle thermique (Ct) et la capacité à répliquer le virus en culture, avec aucune croissance virale au-delà de 34 Ct⁵ (correspondance au nombre de copies/ml non mentionnée). Une autre équipe a publié sur l'absence de croissance en culture virale 8 jours après la survenue des symptômes, et a démontré une absence de croissance en milieu cellulaire lorsque la concentration de copies ARN/ml était inférieure à 100 000 copies/ml.⁶
- Les CDC de Corée du Sud ont enquêté sur 285 cas d'excrétion virale prolongée⁷. Aucun cas n'a généré de cas secondaire. Sur 108 échantillons mis en culture, aucun n'a permis de mettre en évidence une capacité de réplication virale. Tous les échantillons avaient un Ct de plus de 25 et 89.5 % avaient un Ct supérieur à 30.
- Plusieurs intervenants de la santé publique ont été confrontés à la réalité de personnes dépistées sans facteurs de risque présentant des résultats faiblement positifs au RT-PCR pour lesquels on n'a pas trouvé de cas secondaires, et qui reflétait probablement des infections anciennes. Il ne serait pas nuisible à la santé publique, bien au contraire, de retrouver moins de ce type de cas non contagieux et non relié à une épidémie. Une exception demeure lors d'une enquête pour clarifier les chaînes de transmission où, pour des patients ayant pu contracter la maladie plusieurs jours avant l'enquête, il pourrait être intéressant d'avoir le maximum de sensibilité afin de capter le cas.
- Un modèle⁸ qui a considéré à la fois la sensibilité analytique du test, l'accessibilité à celui-ci, la fréquence des dépistages et les délais pour l'émission des résultats a estimé que l'amélioration de la sensibilité analytique du test (limite de détection 1000 copies/ml vs 100 000 copies/ml-2log¹⁰) n'apporte qu'un avantage marginal à la stratégie de contrôle d'une épidémie. En effet, contrairement à un bénéfice marqué sur la progression de l'épidémie observé lorsque le temps-réponse était amélioré, peu de différence était observée avec une amélioration de la limite de détection.

La stratégie de *pooling* est efficace lors que le taux de positivité des tests est inférieur à 8 %. Des outils de calculs montrent qu'il est rentable pour un taux de positivité inférieure à 4 % de faire des pools 1 : 8 et entre 4 et 8 % faire des pools 1 : 4. En raison des étapes techniques supplémentaires pour préparer les pools et la reprise des pools positifs cela entraîne un retard d'émission des résultats positifs et peut engendrer un risque accru d'erreur et contamination inter-échantillons.

Conclusion

À la lumière des données scientifiques actuelles, il est de notre avis que l'impact clinique du regroupement des échantillons sur l'échec de la détection de patient est marginal. En revanche, la stratégie de regroupement des échantillons permet à la fois d'augmenter considérablement la capacité analytique (nombre et fréquence des tests) pour mieux planifier les interventions de santé publique et de diminuer la consommation des réactifs pour réduire les coûts et pallier aux pénuries éventuelles.

En date du 23 septembre 2020, 4 tests de détection rapide antigénique avaient reçu une autorisation d'urgence de la FDA (Emergency Use Authorization (EUA)). BinaxNOW COVID-19 Ag Card (Abbott), LumiraxDx SARS-CoV-2 Ag, BD Veritor System for Rapid Detection of SARS-CoV-2, Sofia SARS Antigen FIA (Quidel).

Ces tests incluant Panbio sont autorisés pour la détection du SRAS-CoV-2 seulement chez les patients symptomatiques.

⁵ La Scola, B.- *Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards.* - Eur J Clin Microbiology and Infect Dis 2020.- 39:1059-1061

⁶ Wölfel, R.- *Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019.*- Nature 28 may 2020, vol 581; pp 465-469.

⁷ <https://www.cdc.go.kr/board/board.es?mid=a30402000000&bid=0030>

⁸ Larremore, D.- *Test sensitivity is secondary to frequency and turnaround time for COVID-19 surveillance.* - medRxiv 2020.06.22.20136309;

Impact clinique de la perte de la sensibilité de regroupement (*pooling*) des échantillons sur la détection des cas de COVID-19

AUTEURS

Judith Fafard, M.D., FRCP, microbiologiste-infectiologue, médecin-conseil,
Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Michel Roger, M.D., Ph. D., microbiologiste-infectiologue, directeur médical
Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Avis entériné par le comité Clinique PCR COVID-19 lors de la réunion du
21 octobre 2020

© Gouvernement du Québec 2020