

FORUM HH 22 juin 2021

Quel test microbiologique, pour qui et à quel moment ?



Dr Onya Opota PhD PD-MER FAMH

Responsable Laboratoire de Diagnostic Moléculaire Mycobactéries et Biosécurité
Institut de microbiologie, CHUV

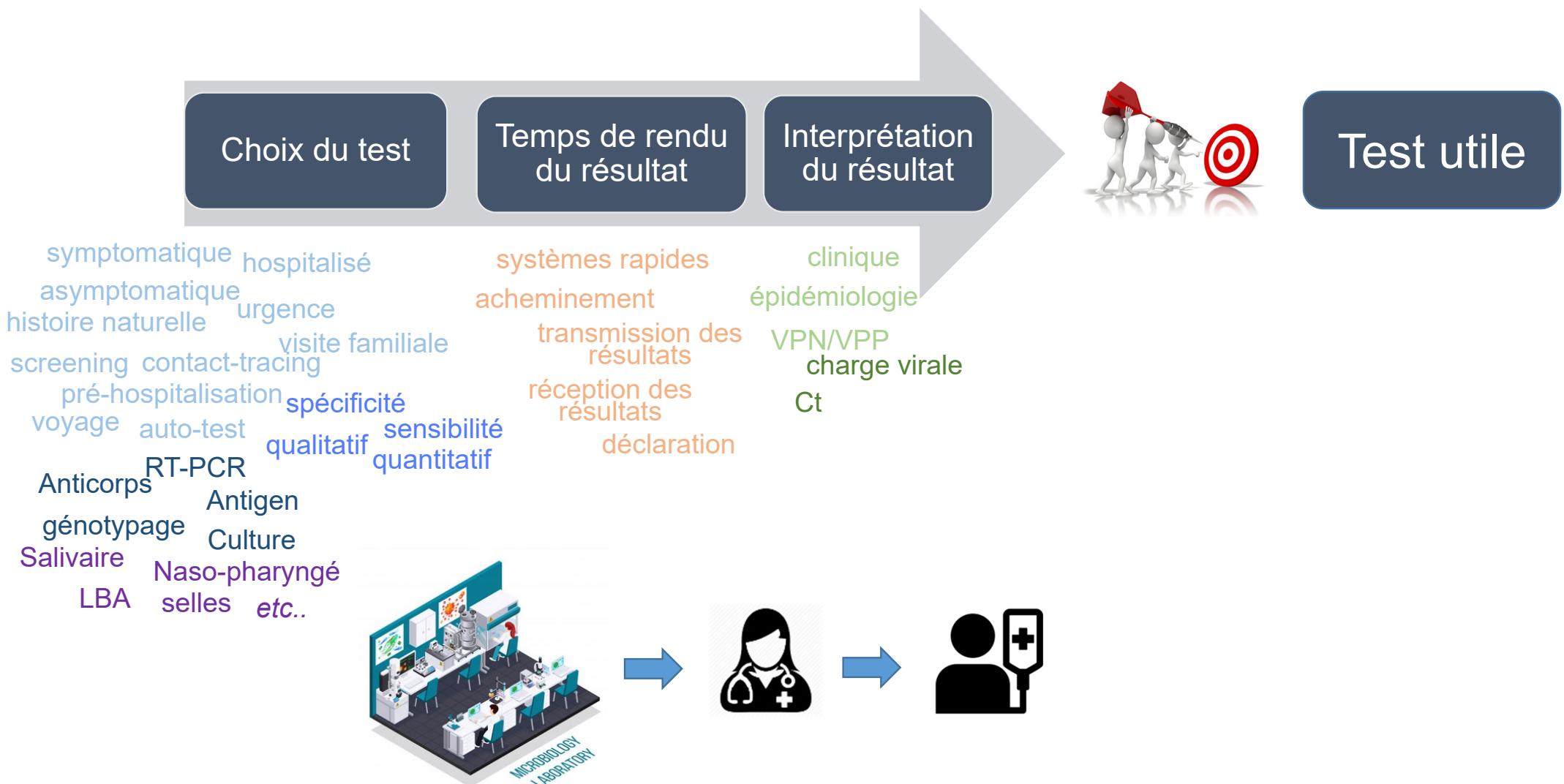
avec la collaboration de

Prof. Gilbert Greub, PD-MER Dr Frédéric Lamoth, PD-MER Dre
Katia Jaton, Dr. Antony Croxatto, Dre Alix Coste

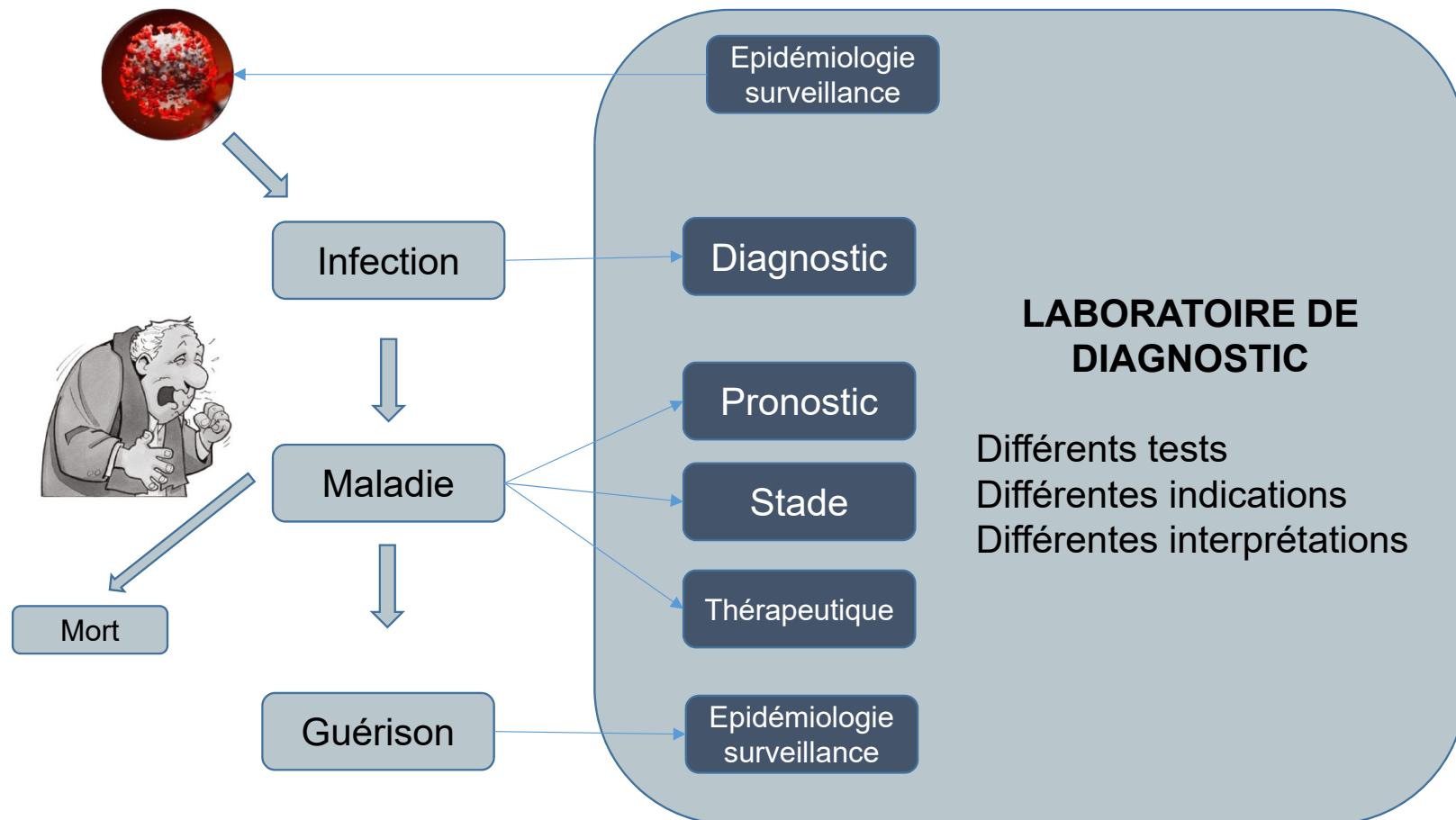
Onya.opota@chuv.ch



Quel test microbiologique pour qui et à quel moment ?

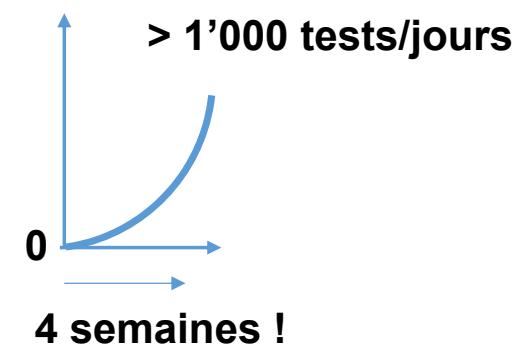


Les multiples rôles du laboratoire

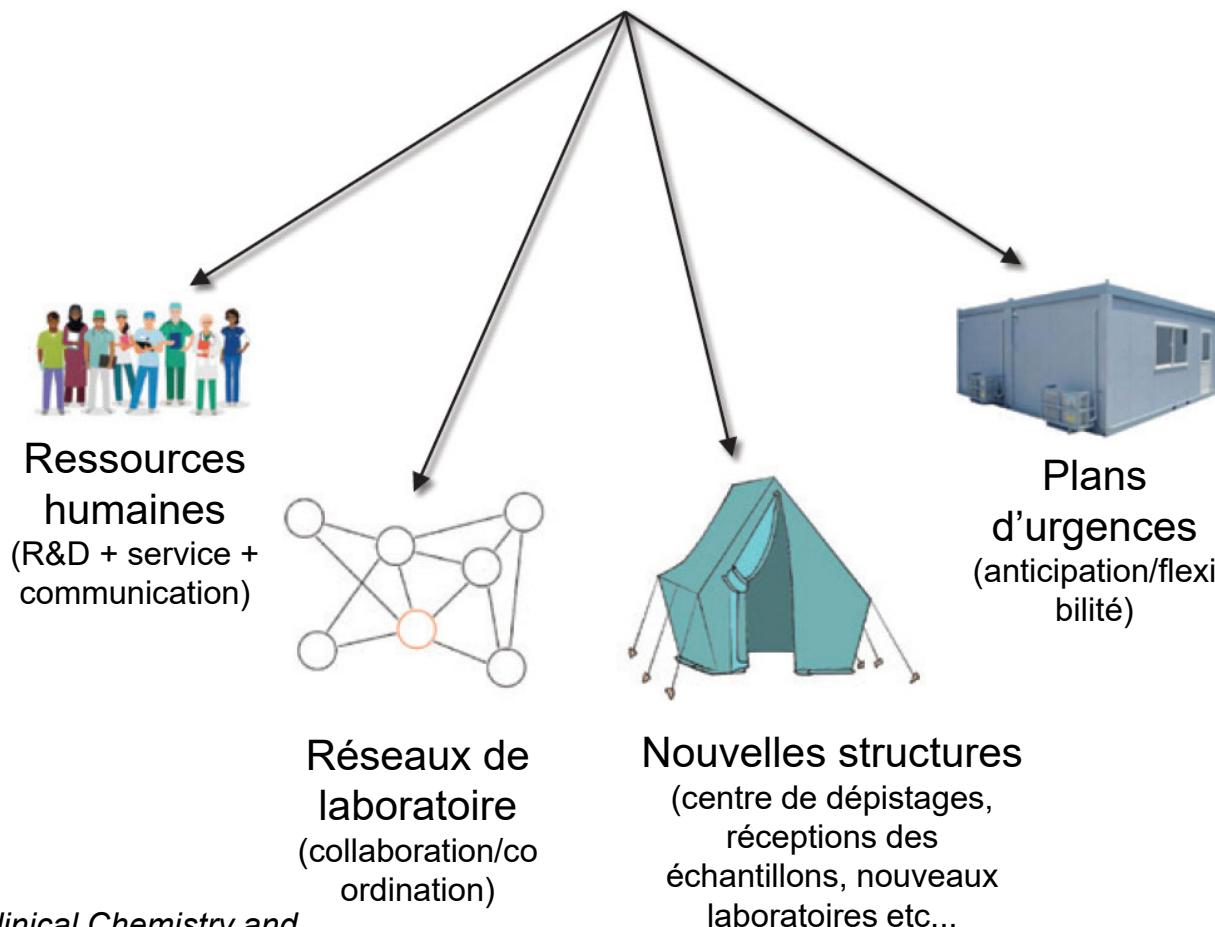


Traduit et adapté de Lippi G, et al *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 2020; **58**: 1063-9

Entre défis et enjeux



Réaction et préparation face à
une pandémie

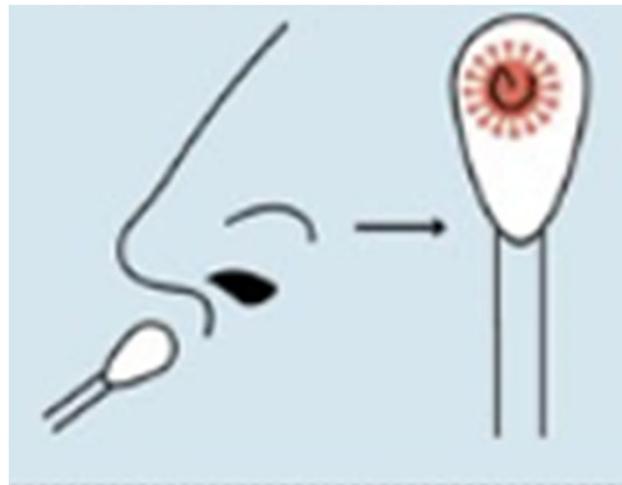


Adapté de Lippi G, et al *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 2020; **58**: 1063-9

Plan

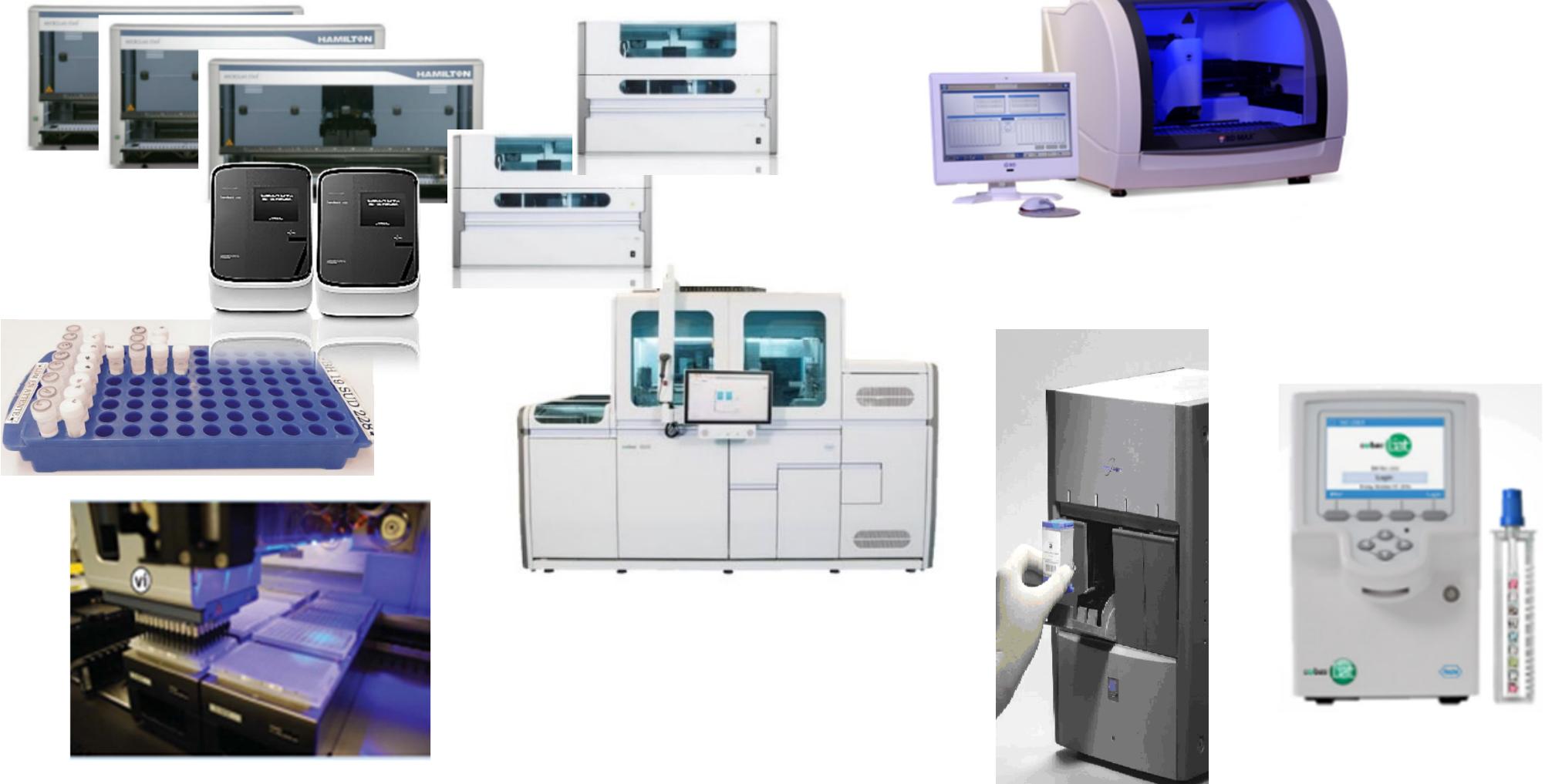
- **Les PCRs**
- **L'approche standard: RT-PCR sur frottis naso-pharyngé**
- **Les alternatives: avantages/limites**
 - Type d'échantillon (salivaire, selles...)
 - Méthodes (tests rapides....)
- **La sérologie**
 - Utilité et valeur ajoutée au cours de la pandémie

Diagnostic étiologique



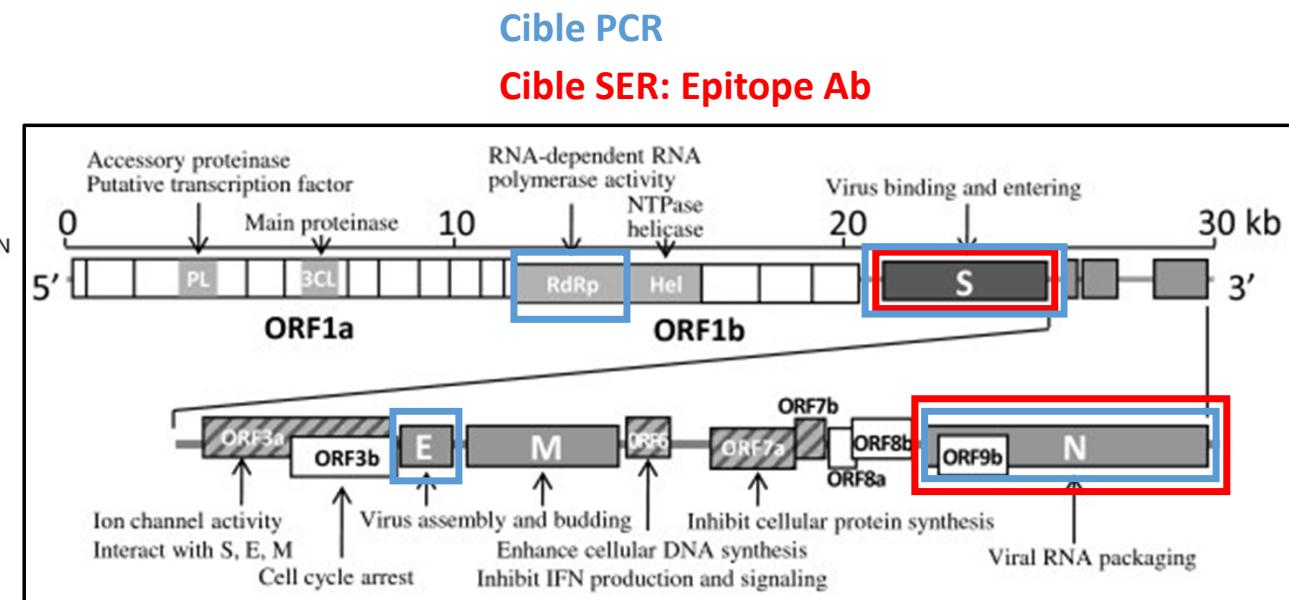
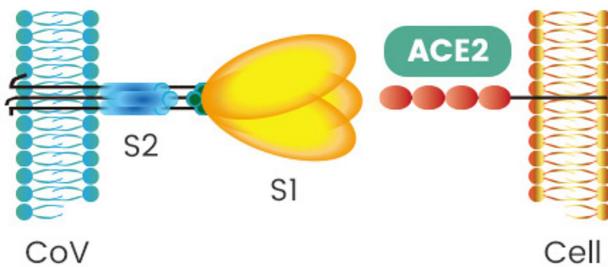
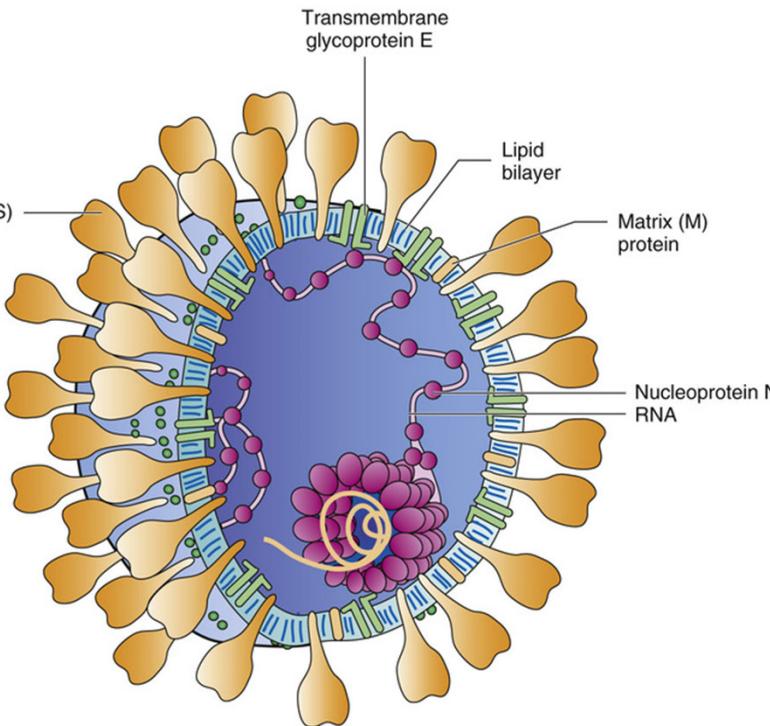
Test de référence:
RT-PCR naso-pharyngée

La PCR - Les PCRs!



Cibles PCR et sérologiques

B



Laboratoire de microbiologie diagnostique

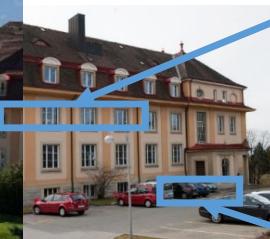


Pré-analytique, Bactériologie,
Mycologie, Parasitologie

Sérologie



Diagnostic moléculaire



BSL3-Tuberculose

Molecular diagnostic platform of the Institute of Microbiology

Greub G, Sahli R, Brouillet R, Jaton K. Ten years of R&D and full automation in molecular diagnosis. *Future Microbiol* 2016; **11**: 403-25.

Plateforme de diagnostic moléculaire de l'IMU



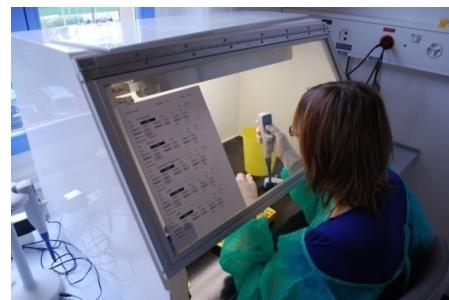
Extraction AND/ARN



Assemblage plaques 384 puits



PCRs



Mélange réactionnel



Salle de contrôle

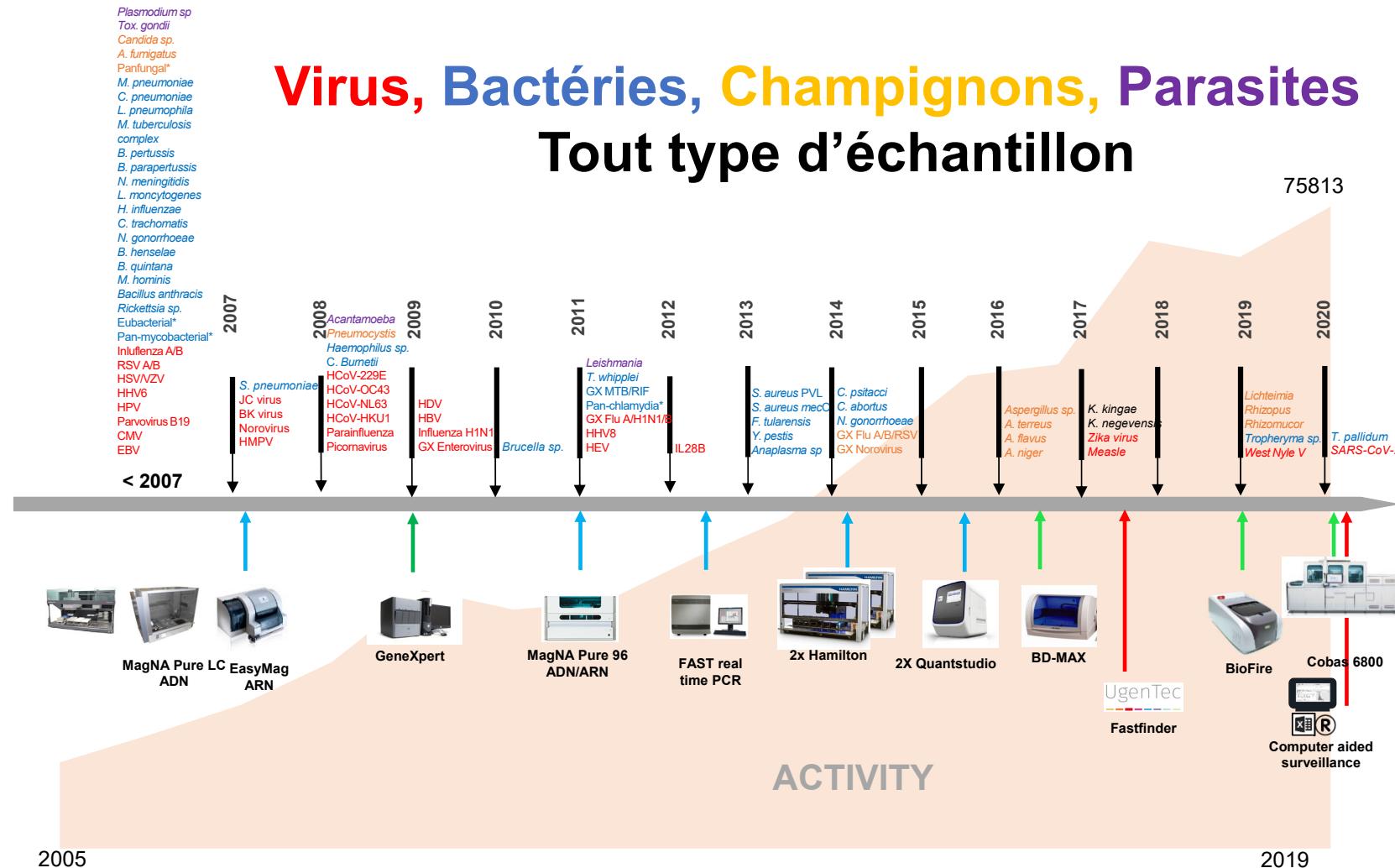


Contrôles positifs

**PLATEFORME OUVERTE
AUTOMATISÉE
STANDARDISÉE**

- Développement des tests en fonction des besoins
- Flexibilité
- Montée en puissance

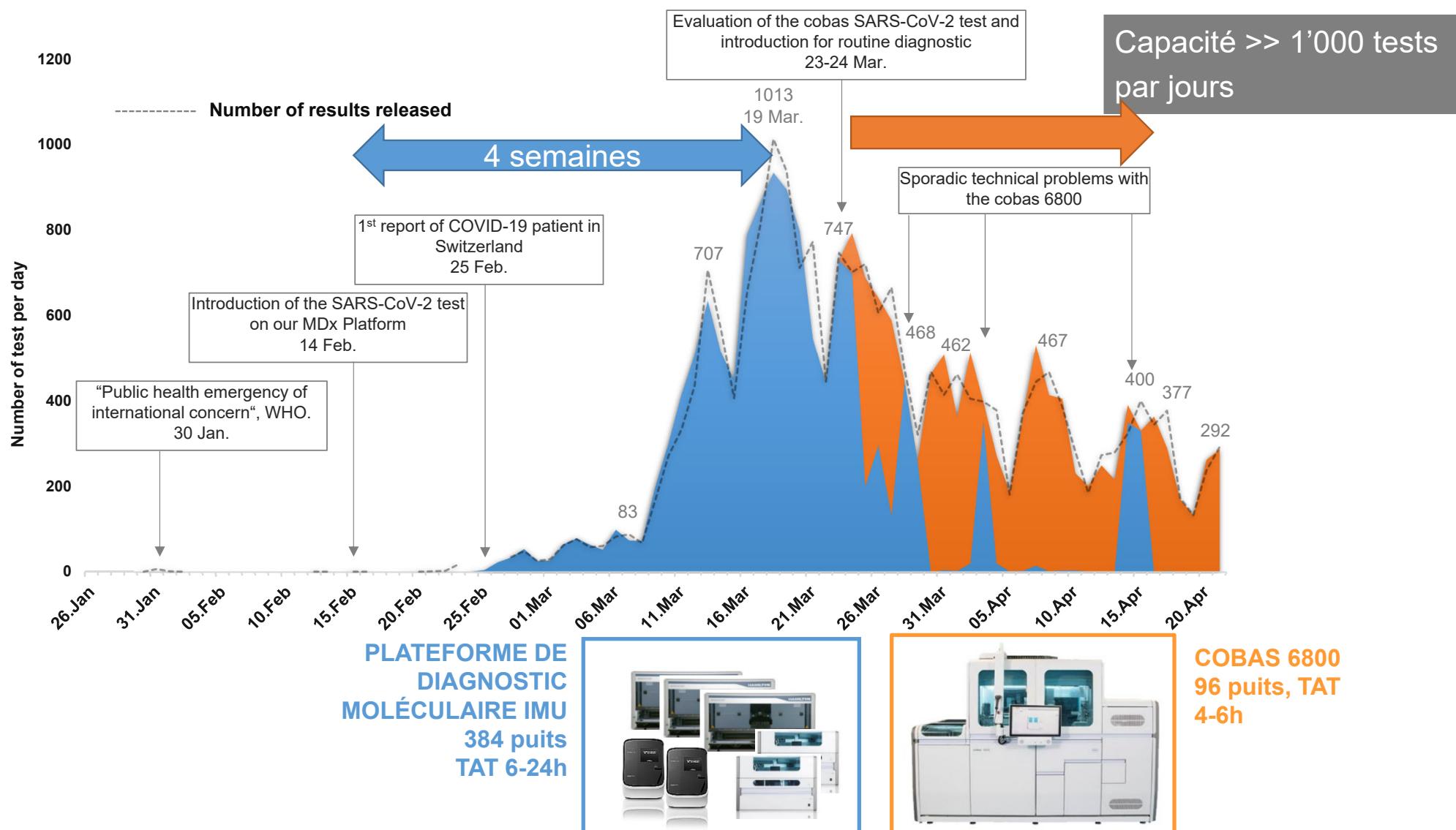
Plateforme de diagnostic moléculaire de l'IMU



Greub G, Sahli R, Brouillet R, Jaton K. Future Microbiol 2016; **11**: 403-25.

Opota O, Brouillet R, Greub G, Jaton K. Pathog Dis 2020.

Haut débit automatisé





Temps de rendu des résultats médian?

- A.~2h
- B.~5-6h
- C.~12-13h
- D.~ 24h

Systèmes rapide RT-PCR

TEST PCR RAPIDE "POCT"

Extraction et purification
ADN/ARN

+

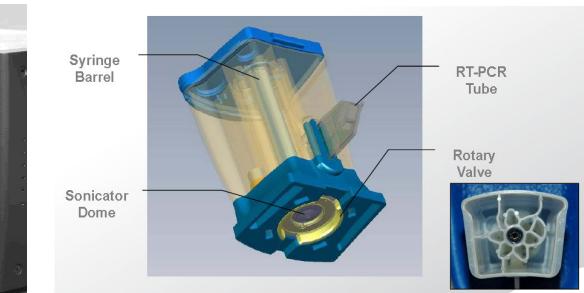
Amplification

+

Détection

+

Résultats libérés
automatiquement



Xpert (Cepheid)



Cobas Liat (Roche)



Biofire (BioMérieux)

30 min – 2heures

Temps de rendu des résultats médian



Plateforme in-house

6 heures



Cobas 6800
(Roche)

5.31 heures



Xpert
(Cepheid)

0.97 heures



Cobas Liat
(Roche)

0.64 heures

Urgences

Global: 5.27 heures

Marquis B, Opota O, Jaton K, Greub G. Impact of different sars-cov-2 assays on the turnaround, 2021.

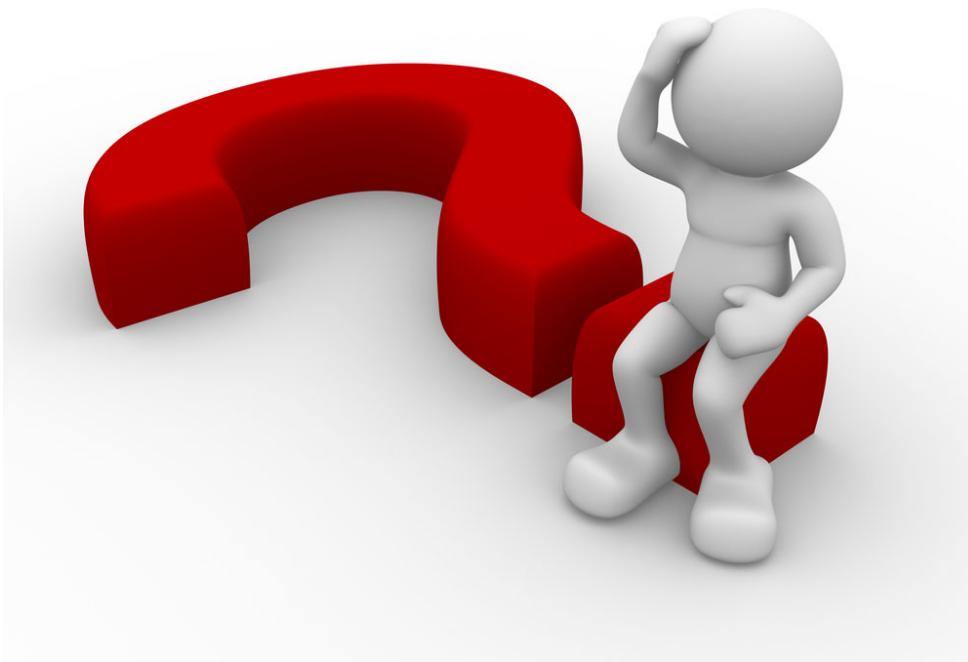
Moraz M, Jacot D, Papadimitriou-Olivgeris M, Senn L, Greub G, Jaton K and Opota O. Universal admission screening strategy for CoVID-19 highlighted the clinical importance of reporting SARS-CoV-2 viral loads. *New Microbes New Infect* 2020; **38**: 100820.

Maury E, Boldi M-O, Greub G, Chavez V, Jaton K, Opota O. An automated dashboard to improve laboratory Covid-19 diagnostics management. *medRxiv* 2021: 2021.03.20.21253624

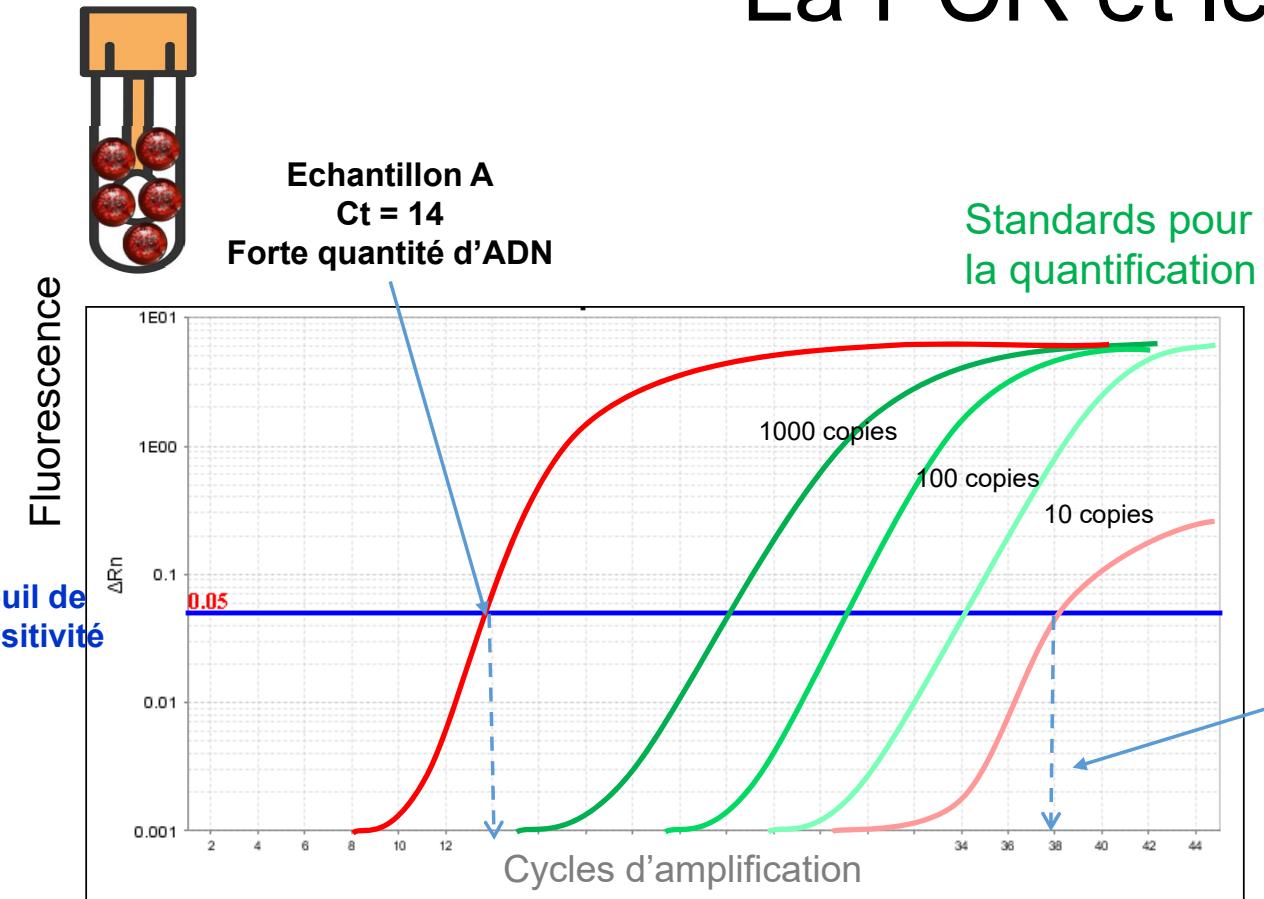
Temps de rendu des résultats médian?

- A.~2h
- B.~5-6h
- C.~12-13h
- D.~ 24h

Et le Ct???



La PCR et le Ct



$Ct \rightarrow$ Conversion en charge virale (copies/ml d'échantillon)

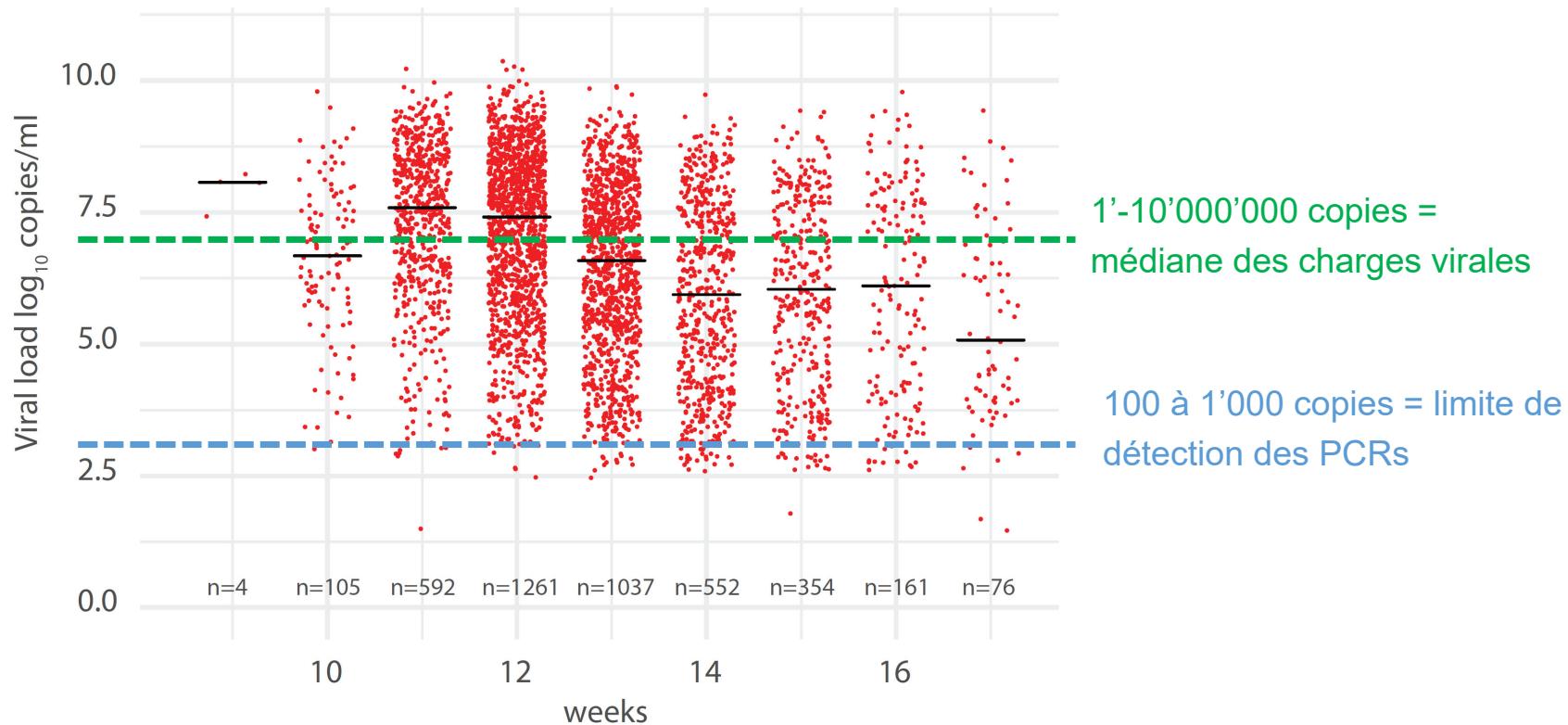
Echantillon B
 $Ct = 38$
Faible quantité d'ADN



- PCR (Polymérase chain reaction) → réaction de polymérisation en chaîne
- Cycles d'amplification d'une matrice d'ADN de départ

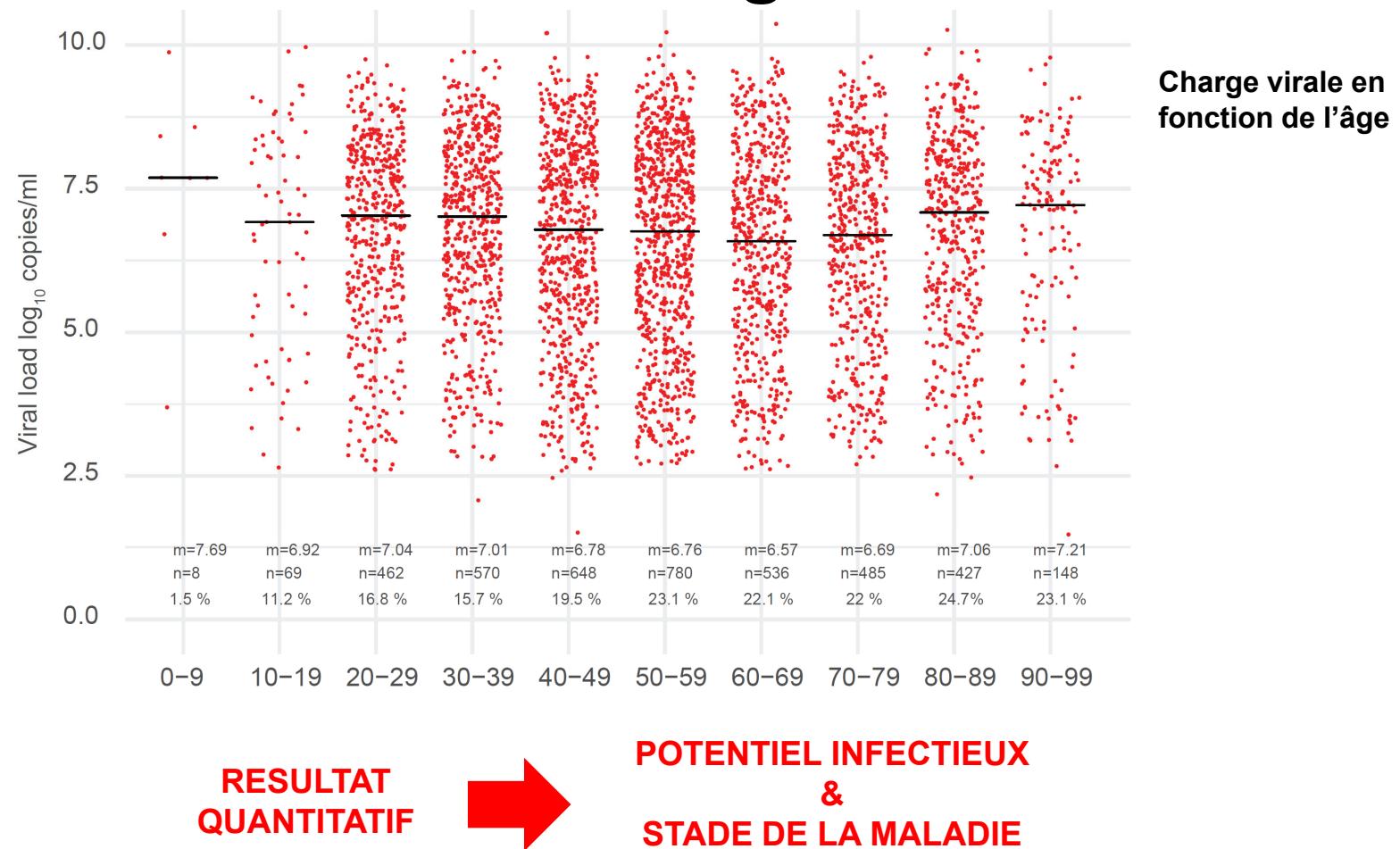
Utilité de la charge virale

Les PCRs sont-elles suffisamment sensibles?



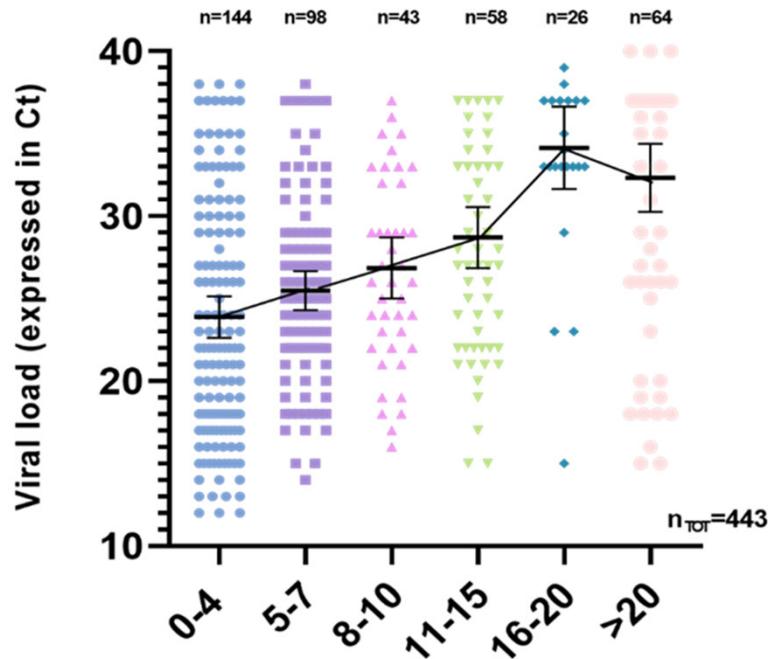
Viral load of SARS-CoV-2 across patients and compared to other respiratory viruses. *Jacot D, Greub G, Jaton K, Opota O. Microbes Infect 2020; 22: 617-21*

Utilité de la charge virale

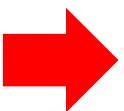


Jacot D, Greub G, Jaton K, Opota O. Viral load of SARS-CoV-2 across patients and compared to other respiratory viruses. *Microbes Infect* 2020; **22**: 617-21.
Moraz M, Jacot D, Papadimitriou-Olivgeris M, Senn L, Greub G, Jaton K and Opota O. Universal admission screening strategy for CoVID-19 highlighted the clinical importance of reporting SARS-CoV-2 viral loads. *New Microbes New Infect* 2020; **38**: 100820.

Ct au cours de la maladie



RESULTAT
QUANTITATIF



POTENTIEL INFECTIEUX
&
STADE DE LA MALADIE

Caruana G, et al. Implementing SARS-CoV-2 Rapid antigen testing in the Emergency ward of a Swiss university hospital: the INCREASE study *Microorganisms* 2021; **9**.

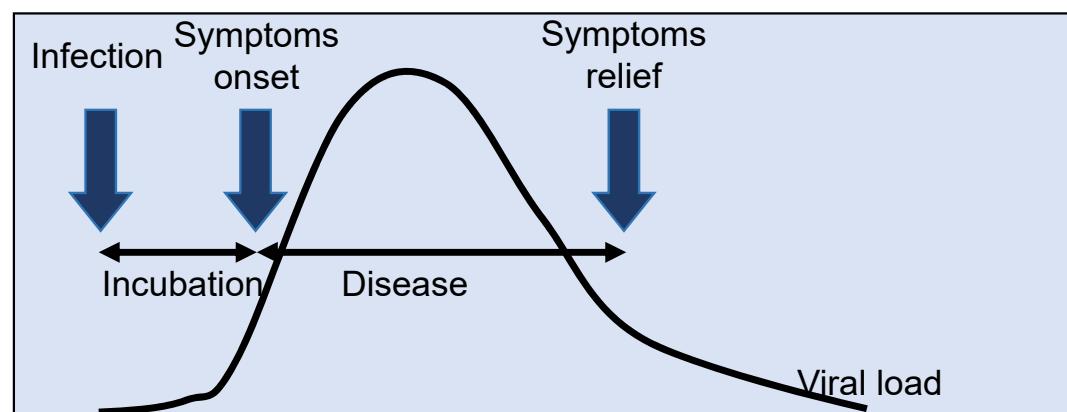
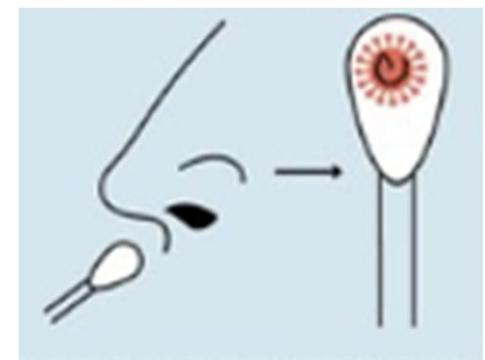
La RT-PCR sur frottis naso-pharyngé = test de référence

Meilleur test de dépistage

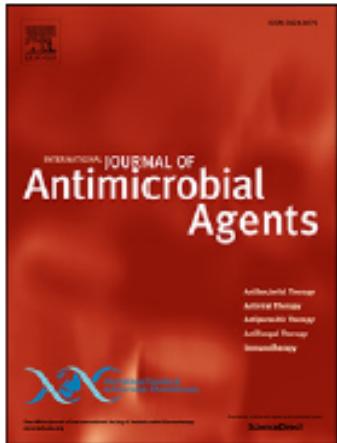
- Sensibilité et spécificité +++

Mais:

- Sensibilité réelle ? : pas de «gold standard» en début de pandémie
- Fonction du stade de la maladie → déclin avec le temps
- Fonction du type d'échantillon et de la qualité du prélèvement
- Prélèvement jugé «désagréable»



Spécificité des RT-PCRs



No evidence of SARS-COV-2 circulation before identification of the first swiss SARS-COV-2 case.

Lhopitalier L, Brahier T, Opota O, Kronenberg A, Mueller Y, Hugli O, Jaton, K. Boillat-Blanco, N. *Int J Antimicrob Agents* 2020; 56: 106100.

Cohorte de patients “pré-covid” testés rétrospectivement (échantillons congelés)

RT-PCR SARS-CoV-2

→ Aucun test positif avant les 1er cas en Suisse

Néanmoins!

(Quelques) Facteurs à considérer pour la spécificité des RT-PCRs

Préanalytique (centre de tests, services, laboratoires)

Analytique (instrument, réactifs)

Post-analytique (interprétation, importance de la quantification)

Le cadeau de Noël!



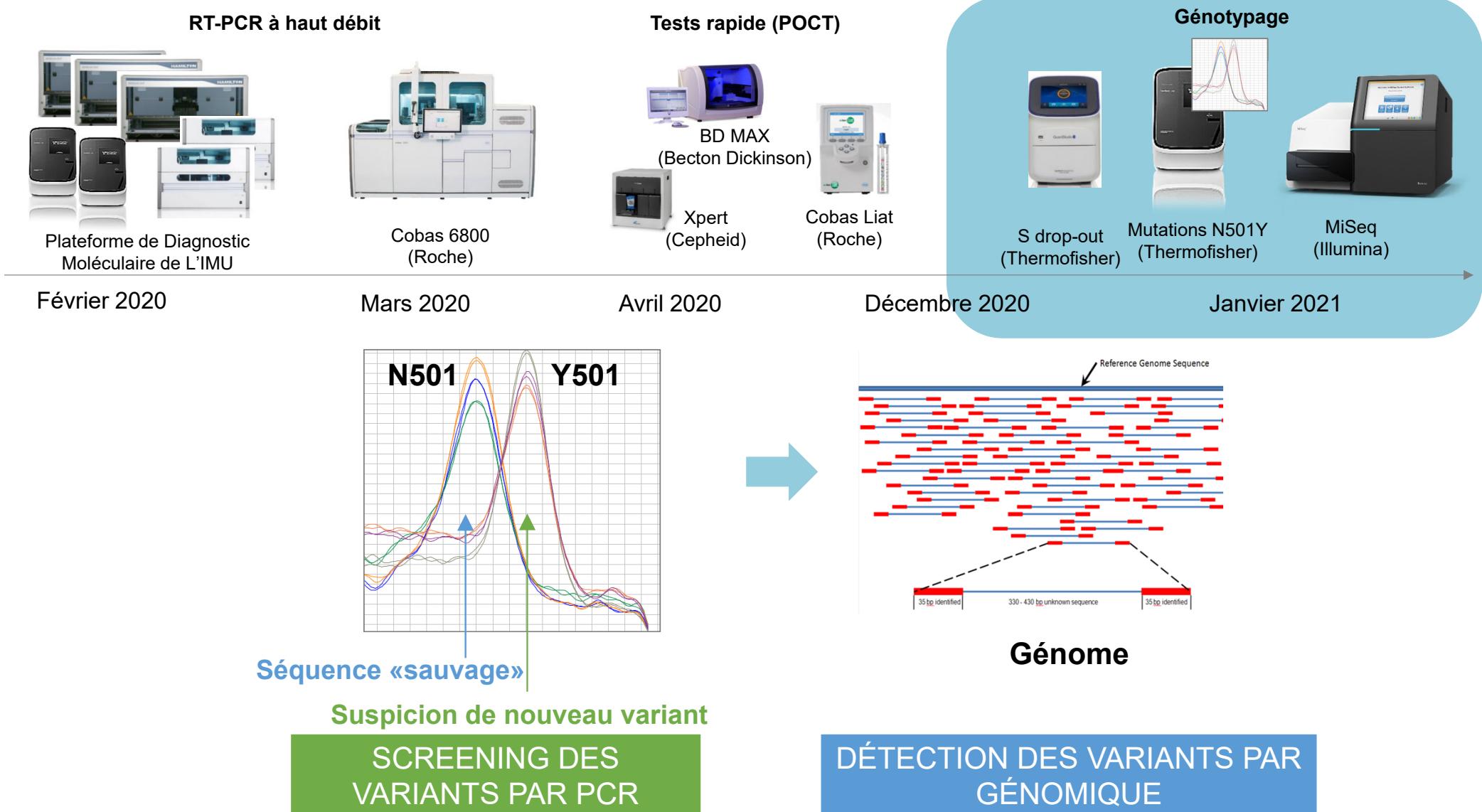
LE TEMPS

Les variants font planer le risque d'une troisième vague

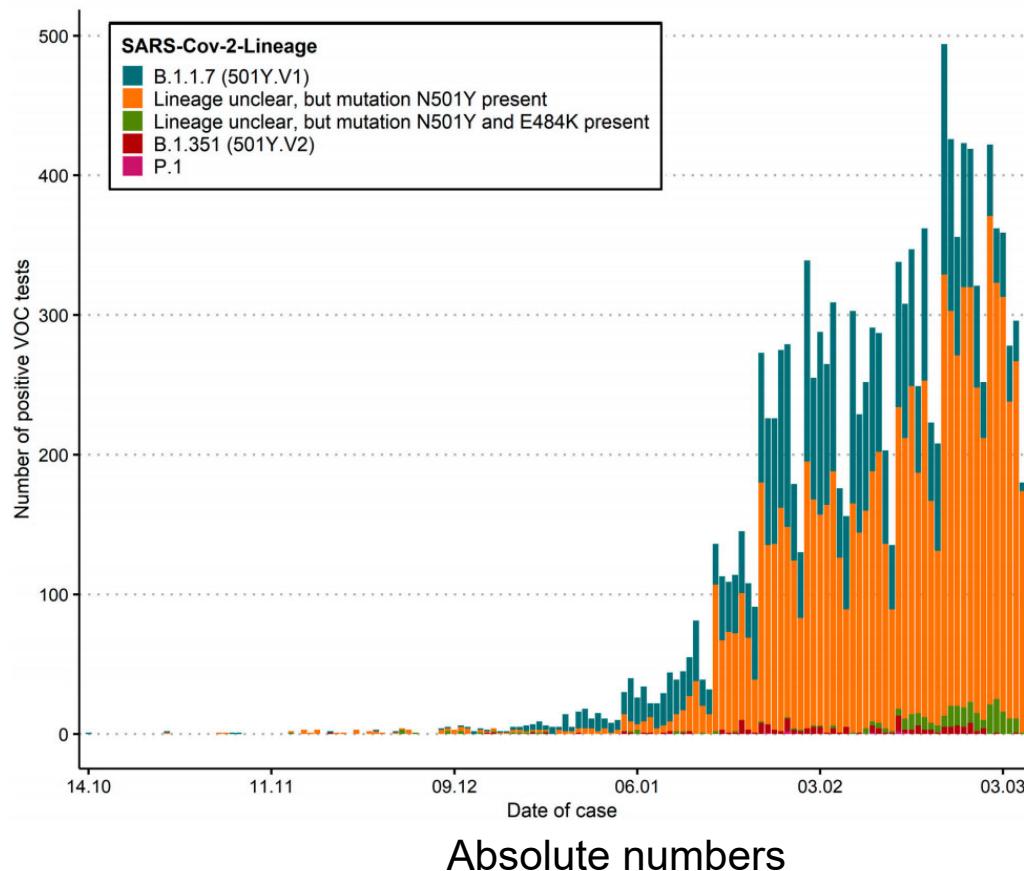


Un membre de la Croix-Rouge philippine effectue un prélèvement covid à Mandaluyong, dans les Philippines. — © ROLEX DELA PENA/EPA

Détection des nouveaux variants



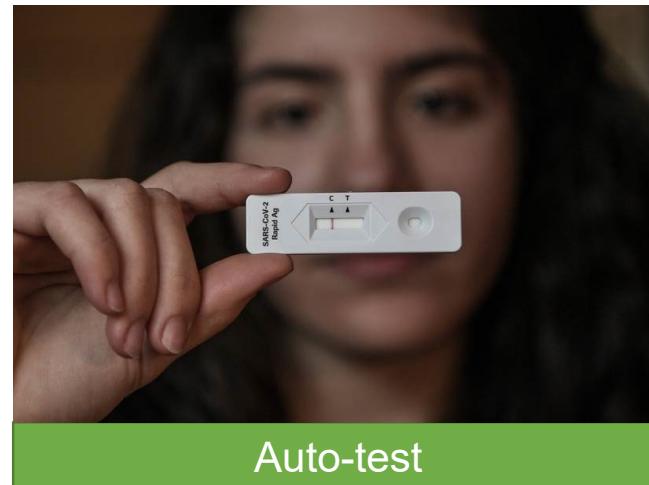
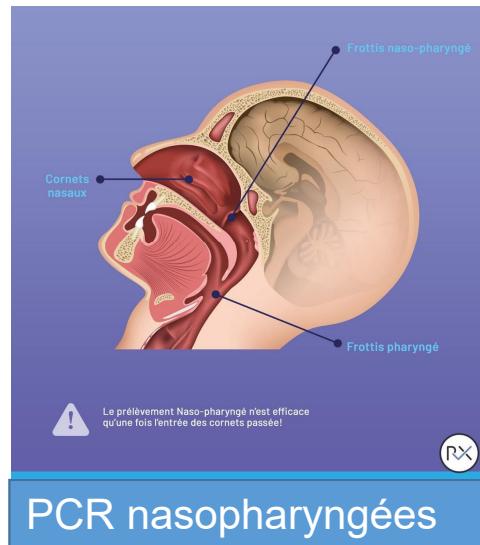
Suivi de l'introduction du variant SARS-COV-2 N501Y en Suisse



Goncalves Cabecinhas et al. SARS-COV-2 N501Y introductions and transmissions in Switzerland from beginning of october 2020 to february 2021—implementation of swiss-wide diagnostic screening and whole genome sequencing. *Microorganisms* 2021; **9**.



**Et à part la PCR dans le frottis
naso-pharyngé ?**



Quel test choisiriez-vous????

RT-PCR sur échantillon salivaire

Performance:

Czumbel et al. (Meta-analyse, Frontiers in medicine 2020)

- Naso-pharyngé 98% (95%CI 89%-100%)
- Salive 91% (95%CI = 80%-99%)

Etudes locales:

- **Adultes:** Schwob JM, et al. *medRxiv* 2020.
- **Pédiatrie:** Fougère Y, al. *medRxiv* 2021.



Test (PCR) salivaire

Avantages et indications:

- **Patient symptomatique < 5 jours**
- Auto-prélèvement
- Contre-indications frottis NP (malformation nasale, épistaxis, enfant, handicap mental...)
- Confort patient

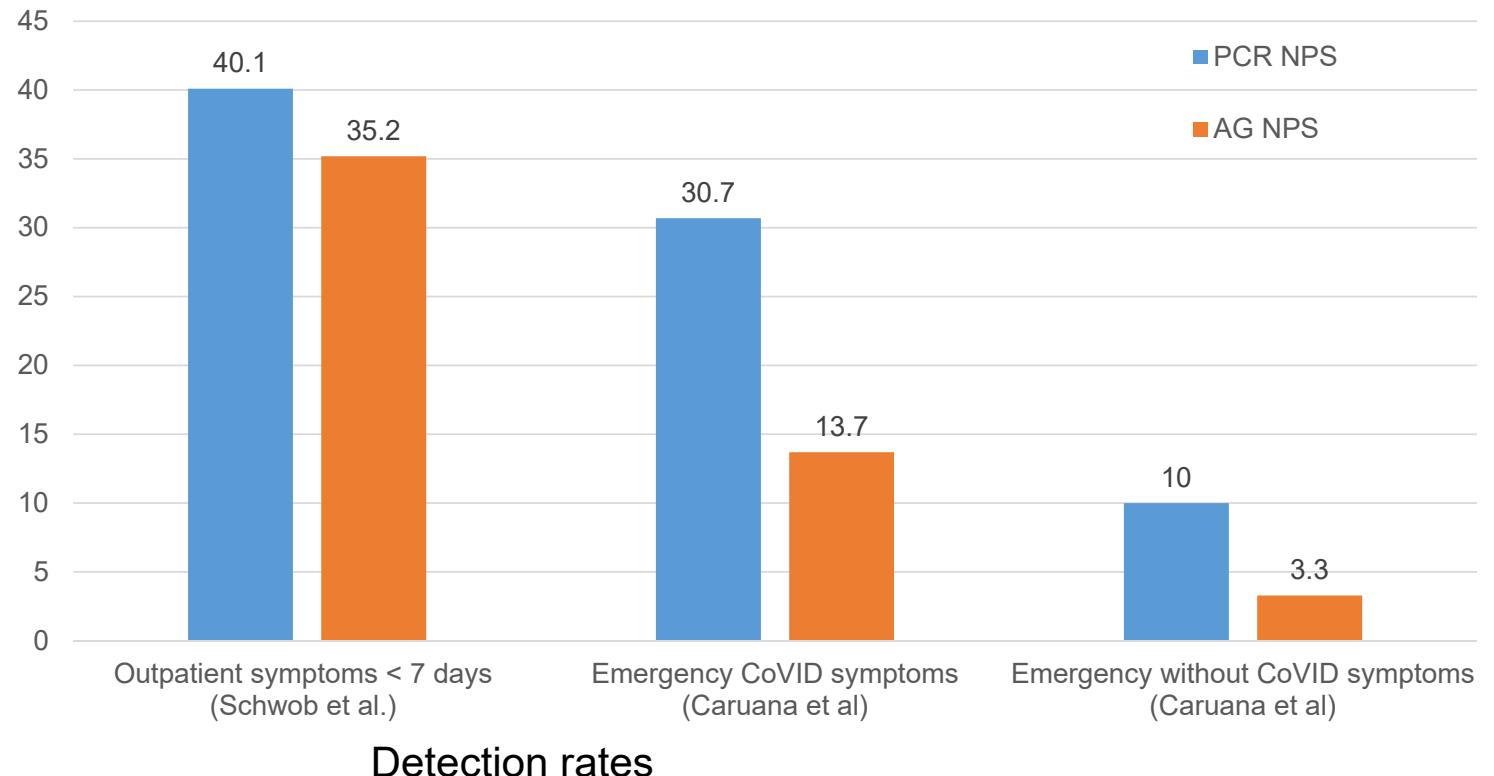
Inconvénients et limites:

- **Patients asymptomatiques**
- **Symptômes > 5 jours**
- Manipulation (transfert, contagiosité)
- Traitement échantillon (homogénéisation)

PCR versus antigènes



Test rapide (naso-pharyngé)



Schwob JM, et al. Antigen rapid tests, nasopharyngeal PCR and saliva PCR to detect SARS-COV-2: A prospective comparative clinical trial. *medRxiv* 2020: 2020.11.23.20237057.

Caruana G, et al. Implementing SARS-COV-2 rapid antigen testing in the emergency ward of a swiss university hospital: The increase study. *medRxiv* 2021: 2021.02.10.21250915.

Test antigénique rapide sur frottis NP

Performance:

- <4 jours: 80 – 90% (vs frottis NP) → 70 – 80% global
- >4 jours: 60% (vs frottis NP) → <50% global

Avantages:

- POCT, résultat quasi-immédiat
- Moins coûteux

Inconvénients:

- Contrainte d'un frottis NP (personnel qualifié, inconfort du patient...)

Indications:

- Patient symptomatique < 4 jours
- Manque d'accès RT-PCR (pas de résultat <24-48h)
- Dépistage de masse (aéroports, dépistage clusters écoles/entreprises)

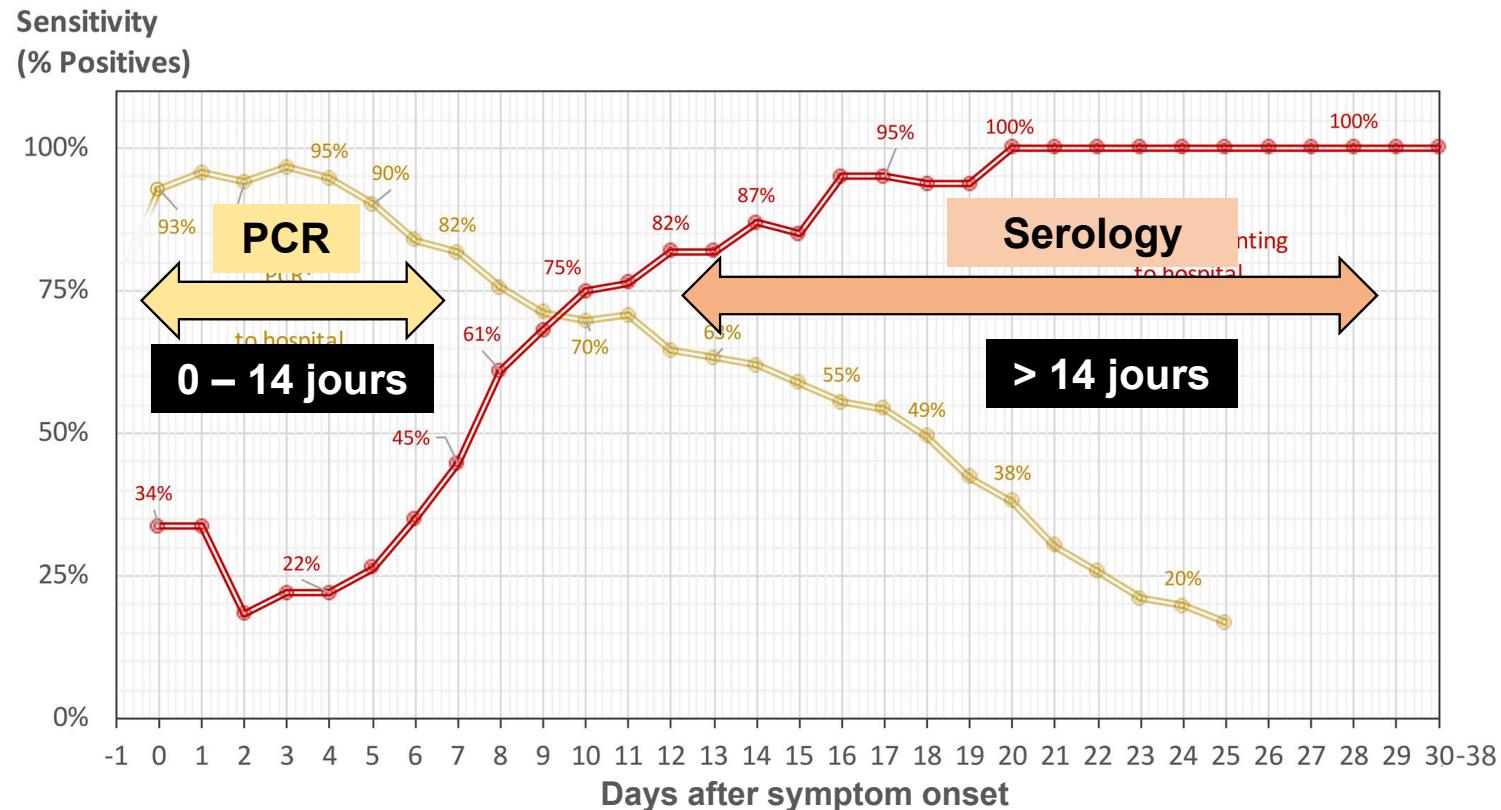


Test rapide (naso-pharyngé)

Confirmation par RT-PCR recommandée selon le contexte clinique/épidémiologique

La sérologie: utilité et valeur ajoutée au cours de la pandémie

Sérologie SARS-CoV-2



Sensibilité: dépend du timing par rapport au début des symptômes:

- <10 jours: faible (<60%)
- 10-15 jours: moyenne (60-90%)
- >15 jours: bonne (90-99%)
- >30 jours: quasi 100%
- Attention: quelques patients (symptômes légers) ne font pas d'anticorps

Spécificité: bonne (>95%), peu de réactions croisées (autres Coronavirus)

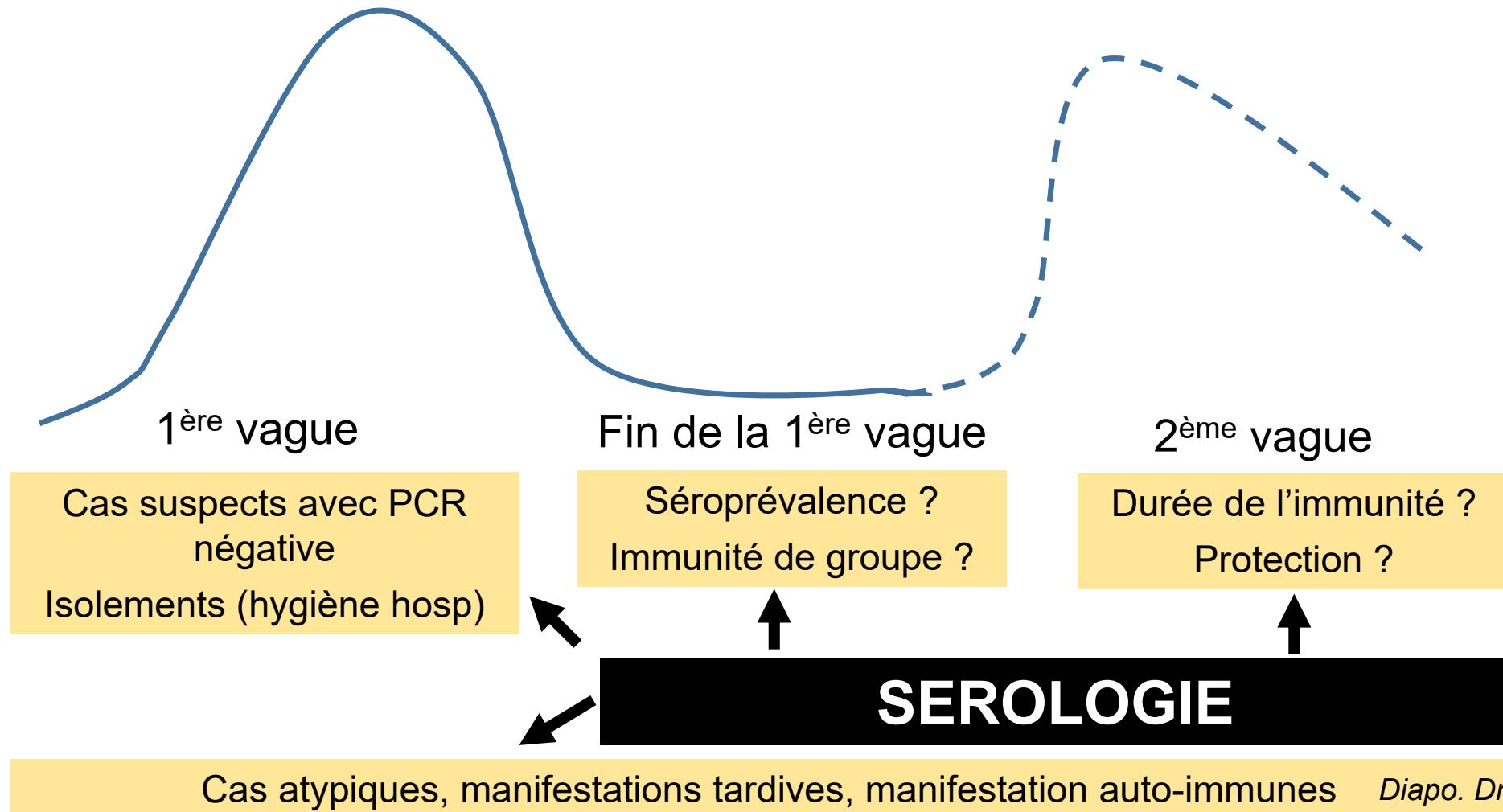
- Différentes cibles (protéines S, N)
- Différentes méthodes (ELISA, chemoluminescence, Luminex)

Miller TE, et al. *The FASEB Journal* 2020; **34**: 13877-84.

Coste AT, Jaton K, Papadimitriou-Olivgeris M, Greub G, Croxatto A. Comparison of sars-cov-2 serological tests with different antigen targets. *J Clin Virol* 2021; **134**: 104690

Rôle de la sérologie dans une pandémie

PCR (puis PCR + AG)



Conclusions

- ❖ Rôle critique des laboratoires pendant une pandémie (diagnostic, pronostic, surveillance...)
- ❖ Base de nombreuses décisions pour la prise en charge patient, pour la santé publique.
- ❖ Nombreux défis et enjeux.
- ❖ Importance +++ des tests «maisons»
- ❖ Importance des interactions pluridisciplinaires



Conclusions

- ❖ La PCR sur frottis naso-pharyngé reste un test de référence.
- ❖ Un seul test ne suffit pas
- ❖ Les méthodes alternatives (tests antigéniques, salivaires...): utile, oui, mais en fonction de la situation clinique/épidémiologique.
- ❖ Risque de mauvaise utilisation/interprétation
- ❖ Penser à la sérologie dans des cas particuliers (cas suspects PCR-négatifs, manifestations tardives/atypiques).



Remerciements



Le Laboratoire de Diagnostic Moléculaire, Mycobactéries et Biosécurité

PD-MER Dre Katia Jaton
Marie-Anne Page
Zahera Naseri
Gregory Gonzalez

Département de médecine de Laboratoire et de Pathologie Service des Maladies Infectieuses & Service de médecine préventive hospitalière Equipe mobile de dépistage Médecin cantonal/OFSP/Unisanté Laboratoires partenaires



UNIL | Université de Lausanne
HEC Lausanne

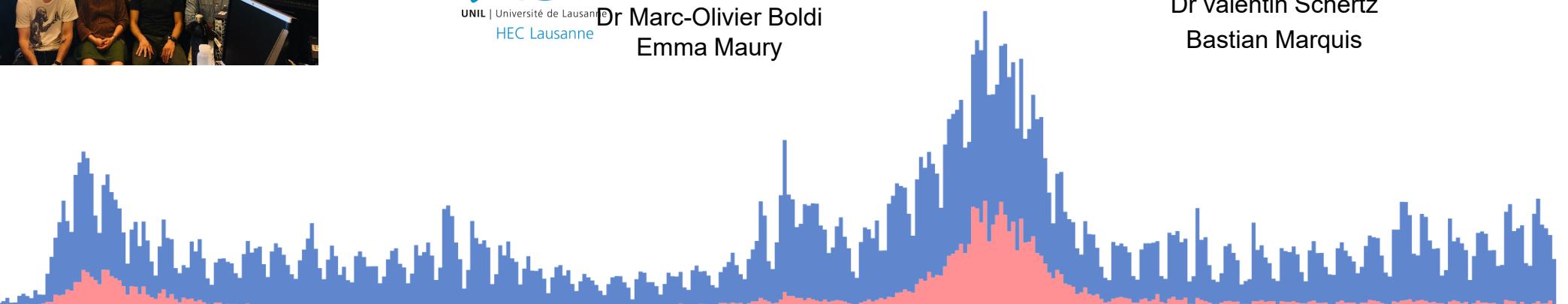
Prof. Valérie Chavez
Dr Marc-Olivier Boldi
Emma Maury

L'institut de Microbiologie

Prof. Gilbert Greub
Dr. Guy Prod'hom
Dr. Anthony Croxatto
PD Dr Lamoth
Dre Alix Coste
René Brouillet

Assistant.e.s FAMHs

Dre Claire Bertelli MER
Dre Linda Mueller
Dr Damien Jacot
Dre Giorgia Caruana
Dre Miloz Moraz
Dre Manon Rossellin
Dr valentin Schertz
Bastian Marquis



Quel test microbiologique, pour qui et à quel moment ?

FORUM HH 22 juin 2021

Dr Onya Opota PhD PD-MER FAMH

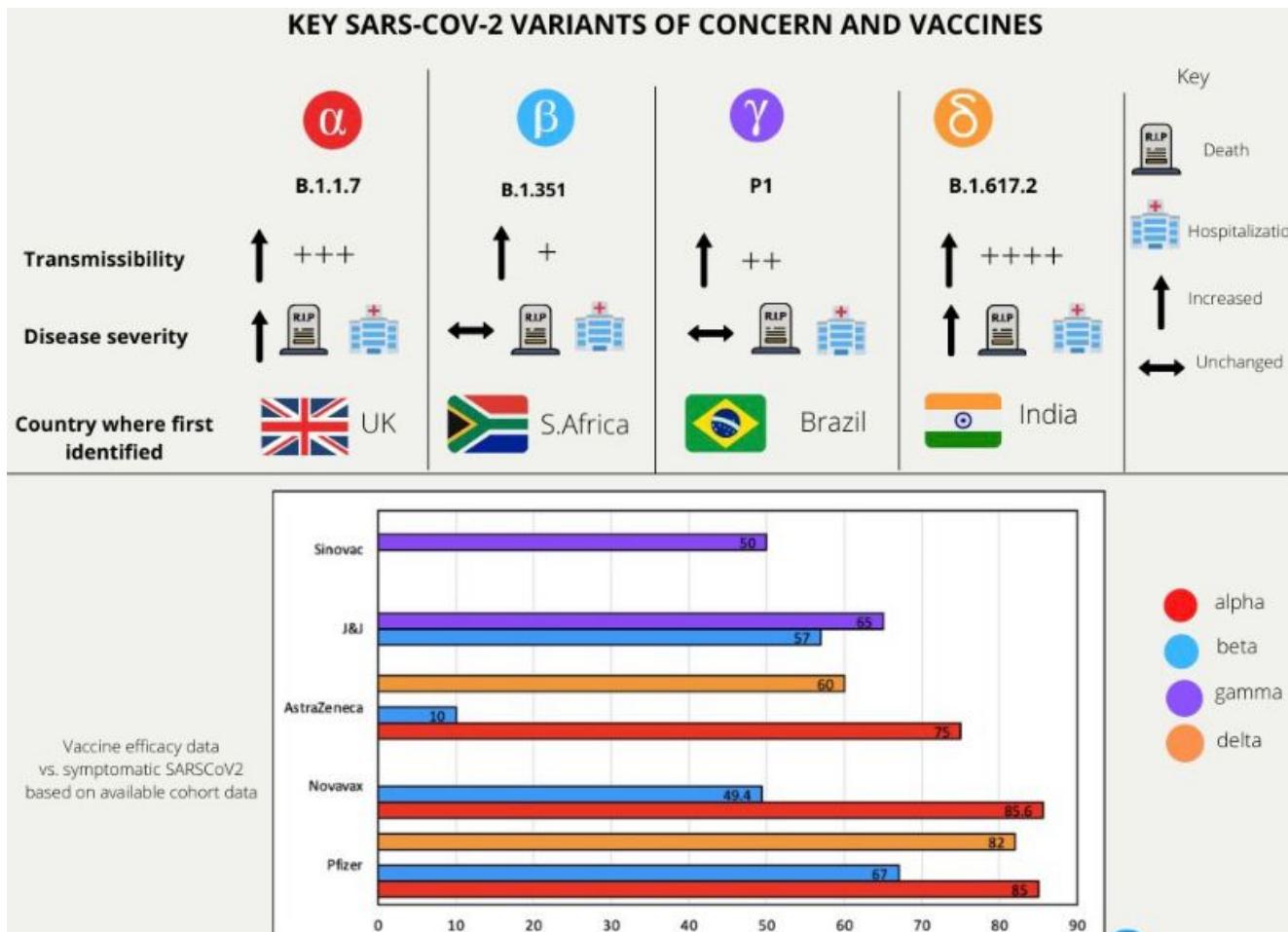
Responsable Laboratoire de Diagnostic Moléculaire
Mycobactéries et Biosécurité
Institut de microbiologie, CHUV

avec la collaboration de

Prof. Gilbert Greub, PD-MER Dr Frédéric Lamoth, PD-MER Dre Katia
Jaton, Dr. Antony Croxatto, Dre Alix Coste



Les nouveaux variants



Les nouveaux variants

Next strain clade	PANGOLIN Lineage	Alternate name	First detected by	Date	Key mutations in spike protein	Pathogenicity ^a
20I/501Y.V1	B.1.1.7	VOC 202012/01	United Kingdom	September 2020	H69/V70 deletion; Y144 deletion; N501Y; A570D; and P681H	Transmissibility increased (36–75%); ⁵¹ Slight reduction in neutralization capacity ⁵²
20H/501Y.V2	B.1.351	VOC 202012/02	South Africa	August 2020	L242/A243/L244 deletion; K417N E484K, N501Y	More transmissible than previously circulating variant; ^{53,54} reduction in neutralization capacity ^{43,55}
20J/501Y.V3	B.1.1.28.1	P.1	Brazil/Japan	December 2020	K417T, E484K; N501Y	More transmissible than previously circulating variant; ⁵⁶ reduction in neutralization capacity ⁵⁷
20C	B.1.525	/	United Kingdom and Nigeria	December 2020	H69-V70 deletion; Y144 deletion; Q52R; E484K; Q677H; D614G; and F888L	Under investigation
20C/S.452R	B.1.427/B.1. 429	CAL.20C/L45 2R	the United States	June 2020	L452R; W152C; S13I; and D614G	Under investigation
20B/S.484K	B.1.1.28.2	P.2	Brazil	April 2020	L18F; T20N; P26S; F157L; E484K; D614G; S929I; and V1176F	Under investigation
/	B.1.1.28.3	P.3	Philippines and Japan	February 2021	141–143 deletion; E484K; N501Y; and P681H	Under investigation
20C	B.1.526 (with E484K or S477N)	/	the United States	November 2020	L5F; T95I; D253G; D614G; A701V; and E484K or S477N	Under investigation
20C	B.1 descendant with 9 mutations	/	France	January 2021	G142 deletion; D66H; Y144V; D215G; V483A; D614G; H655Y; G669S; Q949R; and N1187D	Under investigation

Zhou, W., Wang, W. Fast-spreading SARS-CoV-2 variants: challenges to and new design strategies of COVID-19 vaccines. *Sig Transduct Target Ther* **6**, 226 (2021).