

Diagnostic et séroprévalence SARS-CoV-2 chez l'enfant: saison 2

Dre SANDRA A. ASNER^a et Pre KLARA M. POSFAY-BARBE^{b,c}

Rev Med Suisse 2021; 17: 340-3

Certaines questions demeurent sur le diagnostic de SARS-CoV-2 et sur la séroprévalence chez l'enfant. Les outils moléculaires de type RT-PCR effectués sur des prélèvements nasopharyngés (NP) restent le gold standard du diagnostic de SARS-CoV-2 chez l'enfant comme chez l'adulte. Les frottis NP pourraient peut-être être prochainement remplacés par des frottis salivaires pour lesquels une sensibilité similaire aux frottis NP a été démontrée chez l'adulte, mais pas encore chez l'enfant. Les tests antigéniques effectués sur des frottis NP sont actuellement déployés chez les enfants consultant dans les 4 jours suivant le début de leurs symptômes. Les tests sérologiques sont un outil incontournable aux études de séroprévalence et permettront d'orienter des décisions de santé publique.

Diagnosics and seroprevalence of SARS-CoV-2 in children: season 2

Some uncertainties remain regarding SARS-CoV-2 diagnostic procedures and seroprevalence studies in children. RT-PCR assays conducted on nasopharyngeal (NP) swabs remain the gold standard for SARS-CoV-2 diagnostic in children as in adults. Saliva samples might replace soon NP swabs as similar sensitivities have been reported from both samples in adults, but not yet in children. Rapid antigen testing is currently performed on NP swabs collected from children within 4 days of their symptom onset. Serology testing is an essential diagnostic tool in seroprevalence studies, which might guide in the future public health decisions.

INTRODUCTION

La plupart des virus respiratoires, dont le virus respiratoire syncytial (VRS), touchent particulièrement les enfants, ce qui n'est pas le cas de SARS-CoV-2, s'attaquant principalement aux adultes âgés ou porteurs de facteurs de risque cardiovasculaire. Dès lors, il est judicieux de questionner la sensibilité des différents tests diagnostiques en pédiatrie et de se demander si la répartition entre enfants symptomatiques et asymptomatiques est différente de celle des adultes. Cet article résume les connaissances actuelles en l'état de décembre 2020 des tests diagnostiques en pédiatrie et les informations sur la séroprévalence chez l'enfant.

TESTS DIAGNOSTIQUES (tableau 1) RT-PCR

La détection génétique par PCR en temps réel survenant après rétrotranscription de l'acide ribonucléique (ARN) viral (Real-Time RT-PCR) effectuée sur des prélèvements des voies aériennes supérieures et inférieures est le gold standard pour le diagnostic de Covid-19. Les régions ciblées de l'ARN viral incluent des gènes de la membrane virale externe (E), de la nucléocapside (N) ou de la protéine S (Spike) ou ceux de la polymérase ARN, ARN-dépendante (*RdRp/Hel*). L'Organisation mondiale de la santé recommande l'utilisation de RT-PCR ciblant la détection des gènes *RdRp*, *E*, *N* et *S*, bien que de meilleures sensibilités analytiques aient été rapportées en ciblant la détection des gènes *E* et *RdRp/Hel*.¹⁻³ Le dépistage par RT-PCR à large échelle est majoritairement effectué en utilisant des automates permettant un haut débit d'analyse (100 à 2000 tests/jour), des résultats disponibles rapidement (4 heures) avec peu d'expertise requise, ce qui permet de gagner du temps et d'épargner des forces de travail spécialisées. Le principal inconvénient étant la dépendance à «une marque», selon la machine achetée et la quantité disponible limitée des réactifs. Les dépistages sont habituellement effectués sur des frottis nasopharyngés (NP) dont la sensibilité rapportée est de 97% (92-100%) versus 85% (87-100%) pour les prélèvements nasaux et 56% (35-77%) pour les oropharyngés.³ Les frottis NP permettent donc d'obtenir la meilleure sensibilité avec une limite de détection largement suffisante chez les enfants comme chez les adultes de 100 à 1000 copies/ml, sachant que les enfants symptomatiques ont généralement des charges virales élevées équivalentes à celles des adultes.⁴ Toutefois, la sensibilité des PCR peut être affectée par des erreurs analytiques dues à des problèmes dans la technique de prélèvement, mais aussi selon le stade de la maladie; la charge virale étant faible en phase précoce ou à un stade plus tardif ainsi que chez des enfants paucisymptomatiques. Les tests salivaires par frottis buccaux avec ou sans crachats ou effort de toux⁵ sont une alternative attractive aux frottis NP chez les enfants et lors d'enquêtes épidémiologiques à large échelle. Présentant une sensibilité inférieure aux frottis NP, tout en restant acceptables (66-93%), ils permettent un dépistage moins douloureux et peuvent être effectués directement par l'adolescent ou les parents, ce qui évite de surcharger les filières de dépistage. Une sensibilité maximale étant rapportée chez les patients adultes hospitalisés ou lors d'un prélèvement effectué avant 10 jours du début des symptômes,⁵ ils ne sont recommandés que chez des patients symptomatiques depuis moins de 7 jours.⁵ La sensibilité des autres échantillons (selles, urines et sang) est faible, sauf peut-être les frottis rectaux lors de symptômes gastro-intestinaux.

^aService de pédiatrie, Département femme-mère-enfant, CHUV, 1011 Lausanne,

^bService de pédiatrie générale, Département de la femme, de l'enfant et de l'adolescent, HUG, 1211 Genève 14, ^cFaculté de médecine, UNIGE, 1211 Genève 4
sandra.asner@chuv.ch | klara.posfaybarbe@hcuge.ch

TABLEAU 1 Avantages et inconvénients des différents tests diagnostiques SARS-CoV-2

POC: Point of Care; RAT: Rapid Antigen Testing; RT-PCR: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction.

	Avantages	Inconvénients	Phase aiguë	Probabilité prétest Prévalence
RT-PCR «standard»	<ul style="list-style-type: none"> • Sensibilité et spécificités hautes • Haut débit (1000-2000 tests/j) • Rapidité (196 tests/4 h) • Peu d'expertise requise • Épargne en temps et personnel 	<ul style="list-style-type: none"> • Peu de flexibilité • Dépendance: tributaire des compagnies et des stocks disponibles 	<ul style="list-style-type: none"> • Outil de première ligne • Sensibilité 97% à < 4 jours de l'apparition des symptômes • Asymptomatiques: sensibilité 70-80% 	25% (pic) 5% (prévalence)
PCR «rapide»	<ul style="list-style-type: none"> • Rapide (< 3 h) • Très peu d'expertise requise • Économie en temps et personnel 	Pas de gros débit (un par un) Dépendance: tributaire des compagnies et des stocks disponibles	<ul style="list-style-type: none"> • Outil de première ligne pour des cas sélectionnés: <ul style="list-style-type: none"> - urgences - décisions rapides d'orientation 	25% (pic)
Tests antigéniques	<ul style="list-style-type: none"> • Facile d'utilisation • POC sur place • Résultat quasi immédiat • Facile à lire à «l'œil nu» • Coûts peu élevés 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensibilité moindre • Sensibilité médiocre dans la salive 	<ul style="list-style-type: none"> • Oui, potentiel de dépistage à large échelle • Asymptomatiques: sensibilité 50-60% 	25% (pic) 5% (prévalence)
Sérologie	<ul style="list-style-type: none"> • Bonne sensibilité > 15 jours (90-99%) • Bonne spécificité (> 95%) • Peu de réactions croisées (autres coronavirus) 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensibilité médiocre à < 10 jours du début des symptômes 	Non, sauf éventuellement pour la gestion des cas: <ul style="list-style-type: none"> • faux négatifs • atypiques 	

PCR rapides

Le développement d'outils moléculaires rapides s'utilisant au lit du malade, de type Point of Care (POC) Testing, est particulièrement attractif au vu d'une incidence > 2500 patients infectés pour 100 000 habitants. Tous les tests utilisent la même technologie de base que les outils moléculaires standards avec une sensibilité de détection équivalente. La majorité des étapes de ces tests étant automatisées, les POC permettent d'obtenir un résultat en moins de 3 heures, tout en requérant moins d'expertise et d'infrastructure. Ils sont ainsi particulièrement utiles aux urgences pour décider l'orientation des patients, mais aussi pour renforcer les décisions de quarantaine. Toutefois, ils ne peuvent être utilisés qu'un par un, le débit des tests étant ainsi nettement inférieur aux RT-PCR standards. Leur utilisation est également limitée par leur coût élevé et leur dépendance des compagnies, et donc des stocks de réactifs disponibles.

Tests antigéniques rapides

Différents tests antigéniques rapides (Rapid Antigen Testing (RAT)) sont actuellement disponibles, avec une sensibilité globale des meilleurs tests variant entre 50 et 85% s'ils sont effectués dans les quatre premiers jours des symptômes, mais qui chute en dessous de 60% au-delà (données du Pr Kaiser, HUG, en voie de publication). Ils sont basés sur la détection d'antigènes, donc de protéines virales, par le biais d'une réaction antigène-anticorps qui déclenche une réaction de fluorescence. La performance des RAT est dépendante de la charge virale et reste inférieure à celle des RT-PCR. Ainsi, la sensibilité va chuter de 90% en cas de virémie supérieure à 1000 copies/ml à 10% en cas de virémie < 1000 copies/ml. Le timing du prélèvement va également affecter la sensibilité du test, cette dernière étant de 80% vs < 50% respectivement en cas de prélèvement dans les 4 ou 7 jours du début des symptômes. La sensibilité maximale est documentée dans les prélèvements NP présentant une charge virale maximale et durant la première semaine suivant le début des symptômes.

Les RAT ne sont pas recommandés pour les échantillons salivaires, leur sensibilité étant médiocre (12%). Ils sont faciles d'usage, permettent d'obtenir un résultat rapide et sur place en 15 minutes, sont faciles à lire et leur coût est peu élevé. Malgré leur sensibilité moindre à celle des tests RT-PCR, ils sont une alternative attractive et fiable à ceux-ci et sont recommandés par l'Office fédéral de la santé publique (OFSP) lors de symptômes datant de moins de 4 jours, chez des enfants de tout âge sans facteurs de risque et lors de suivis ambulatoires ou d'investigation de flambées.

Sérologies

Les sérologies permettent la détection d'immunoglobulines G (IgG), M (IgM) ou A (IgA) dans le sérum, le plasma ou le sang complet et sont utiles en dehors de la phase aiguë de la maladie. Les protéines antigéniques virales ciblées sont la protéine N, la protéine S ou certains domaines fortement immunogéniques de la protéine S, les deux dernières ayant une sensibilité supérieure à la protéine N. La spécificité des tests sérologiques disponibles est excellente (> 98%). La sensibilité dépend du test sérologique utilisé et du timing du prélèvement par rapport au début des symptômes. Les anticorps dirigés contre la protéine N diminuant plus rapidement que ceux dirigés contre la protéine S, la sensibilité des sérologies ciblant uniquement la protéine N est moins bonne lorsqu'elles sont prélevées au-delà de 14 jours du début des symptômes. Ceci dit, la sensibilité globale des tests sérologiques excède 90% si les prélèvements sont effectués 15 à 20 jours après l'apparition des symptômes, mais est très faible durant les premiers jours.⁶ Ainsi, la sérologie est utile pour des études épidémiologiques de séroprévalence et pour les futures évaluations de réponses vaccinales ou, a posteriori, lors de fortes suspicions cliniques et de deux tests NP par PCR négatifs ou encore en cas de Pediatric Multisystem Inflammatory Syndrome Temporally Associated with COVID-19 (PIMS-TS). Les différentes sérologies disponibles sont des sérologies quantitatives ou semi-quantitatives de type Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) ou Chemiluminescent

Immunoassay (CLIA) effectuées en laboratoire et des tests qualitatifs comprenant des tests immunochromatographiques de type POC qui peuvent s'effectuer sur du plasma, du sérum ou une prise de sang capillaire directement au lit du patient.^{3,7} Les sérologies sont aussi utiles pour mesurer les réponses immunitaires après une infection à SARS-CoV-2 et comparer celles des enfants à celles des adultes. Une étude récente suggère que les adultes présentent une réponse sérologique plus importante, plus variée, et une activité neutralisante des anticorps détectés supérieure à celles des enfants.⁸

SÉROPRÉVALENCE

Les études de séroprévalence ont pour objectif d'évaluer la proportion d'une population infectée par un micro-organisme. À ce jour, plus de 50 millions de personnes ont été infectées dans le monde par le SARS-CoV-2. L'absence de chiffres sur le nombre d'enfants touchés, le manque de différenciation par âge et d'informations basées sur l'incidence (tests de dépistage positifs au moment de la phase aiguë, donc basés sur le nombre d'enfants symptomatiques) et non sur la séroprévalence, limitent le nombre de données fiables disponibles.⁹ De plus, le nombre d'enfants non testés en raison des recommandations nationales (comme en Suisse pour les moins de 12 ans non hospitalisés), voire les enfants non identifiés, car paucisymptomatiques, fausse les résultats globaux. Les études de séroprévalence permettent de « rattraper » un nombre probablement important de ces enfants, si elles sont effectuées de façon systématique. Cependant, les études de séroprévalence en pédiatrie ont été menées dans des environnements incluant des régions en confinement ou semi-confinement, avec des écoles ouvertes, partiellement ouvertes ou fermées. Il est donc pour l'instant indispensable de bien évaluer le contexte de ces études de séroprévalence avant de pouvoir généraliser les résultats.

Au début de l'épidémie, la plupart des études de séroprévalence comportaient des biais, incluant la façon de sélectionner l'échantillon et l'utilisation de sérologies avec des sensibilités variables.¹⁰ Lors de la première vague (printemps 2020), la séroprévalence mondiale chez l'enfant oscillait entre 0 et 6%, les plus jeunes étant moins touchés.¹¹

Dans une étude de 49 enfants hospitalisés Covid+, dont 18 asymptomatiques, 87,8% avaient des anticorps détectables, dont 44,2% déjà la première semaine, principalement chez les sujets asymptomatiques,¹² suggérant que ces enfants avaient acquis le SARS-CoV-2 quelque temps avant qu'ils soient considérés comme positifs. Parmi 1076 enfants consultant dans un hôpital aux États-Unis pour des raisons autres que le Covid, la séropositivité est passée à 1% en 1 mois, mais une minorité des patients positifs avait eu des symptômes suggérant une infection à SARS-CoV-2 dans un passé proche.¹³

Dans une étude genevoise (SEROCoV-POP) conduite lors de la première vague alors que les écoles étaient fermées et incluant 2766 participants de l'étude Bus Santé et les personnes de leur ménage âgées de plus de 5 ans, les enfants entre 5 et 9 ans avaient une séroprévalence inférieure aux autres tranches d'âge (risque relatif (RR): 0,32 (IC 95%: 0,11-0,63; p = 0,0008) par rapport à la tranche d'âge de référence 20-49 ans).¹⁴ Chez les enfants entre 10 et 19 ans, le RR était de 0,86 (IC 95%:

0,57-1,22; p = non significatif). Durant les 5 semaines de l'étude, la séroprévalence estimée est passée de 4,8% (IC 95%: 2,4-8,0) à 10,8% (IC 95%: 8,2-13,9).

Dans une grande étude (ENE-COVID), la prévalence dans presque 36 000 ménages choisis au hasard en Espagne au printemps 2020 montrait que parmi 11 422 enfants jusqu'à 19 ans, 3,4% étaient séropositifs pour SARS-CoV-2, alors qu'au niveau de la population, la séroprévalence était de 5%.¹⁵ Les auteurs ont pu démontrer que la séroprévalence augmentait avec l'âge, passant de 1,1% chez les moins de 1 an à 3,1% chez les enfants âgés de 5 à 9 ans.

Depuis, des efforts ont été consentis pour améliorer la méthodologie des études de séroprévalence et pour permettre une comparaison dans les résultats. Un site tente de regrouper toutes les données par pays (www.serotracker.com) en mettant les références et permet de différencier la séroprévalence par âge également, distinguant, par exemple, les enfants de 0 à 12 ans et ceux de 13 à 17 ans.

Cependant, de nombreuses questions demeurent: la durée de persistance des anticorps à des taux protecteurs, voire détectables, reste inconnue. Plusieurs problèmes techniques, voire éthiques, inhérents aux populations pédiatriques, compliquent les études de séroprévalence. Les prises de sang sont plus difficiles chez les enfants et le volume sanguin circulant est moindre. De plus, la notion du consentement est plus complexe. Ainsi, établir le taux d'anticorps à des fins de recherche uniquement est souvent questionnable pour les enfants, mais aussi pour les parents.

CONCLUSION

L'analyse de SARS-CoV-2 par PCR dans les frottis NP reste la méthode diagnostique de choix chez les enfants. Les RAT ont également été validés dans des situations ambulatoires pédiatriques bien précises. Les tests sérologiques sont particulièrement utiles dans le cadre d'études de séroprévalence, où ils pourraient orienter des décisions cruciales de santé publique, comme celles concernant l'ouverture des écoles et des crèches.¹⁶ En Suisse, l'étude Corona Immunitas qui s'intéresse à la séroprévalence adulte et pédiatrique complétera ces informations.¹⁷

Conflit d'intérêts: Les auteurs n'ont déclaré aucun conflit d'intérêts en relation avec cet article.

IMPLICATIONS PRATIQUES

- L'analyse de SARS-CoV-2 par PCR dans les frottis nasopharyngés reste la méthode diagnostique de choix, les tests antigéniques rapides étant uniquement validés dans des situations ambulatoires pédiatriques bien précises
- Les tests sérologiques sont un complément indispensable au diagnostic en dehors de la phase aiguë, notamment dans le cadre d'études de séroprévalence
- Les études de séroprévalence permettent de mieux identifier la transmission de SARS-CoV-2 chez les enfants et peuvent être utiles comme moteurs décisionnels en santé publique

- 1 Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) by Real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020;25:2000045.
- 2 **Caruana G, Croxatto A, Coste AT, et al. Diagnostic Strategies for SARS-CoV-2 Infection and Interpretation of Microbiological Results. *Clin Microbiol Infect* 2020;26:1178-82.
- 3 **Tadini E, Papamidimitriou-Olivegris M, Opota O, et al. SARS-CoV-2, un point dans la tourmente. *Rev Med Suisse* 2020;16:917-23.
- 4 **Baggio S, L'Huillier AG, Yerly S, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in the Upper Respiratory Tract of Children and Adults with Early Acute COVID-19. *Clin Infect Dis* 2020:1157.
- 5 *Nagura-Ikeda M, Imai K, Tabata S, et al. Clinical Evaluation of Self-Collected Saliva by Quantitative Reverse Transcription-PCR (RT-qPCR), Direct RT-qPCR, Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification, and a Rapid Antigen Test to Diagnose COVID-19. *J Clin Microbiol* 2020;58.
- 6 To KK, Tsang OT, Leung WS, et al. Temporal Profiles of Viral Load in Posterior Oropharyngeal Saliva Samples and Serum Antibody Responses during Infection by SARS-CoV-2: an Observational Cohort Study. *Lancet Infect Dis* 2020;20:565-74.
- 7 Li Z, Yi Y, Luo X, et al. Development and Clinical Application of a Rapid IgM-IgG Combined Antibody Test for SARS-CoV-2 Infection Diagnosis. *J Med Virol* 2020:1-7.
- 8 *Weisberg SP, Connors TJ, Zhu Y, et al. Distinct Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Children and Adults across the COVID-19 Clinical Spectrum. *Nat Immunol* 2020. Disponible sur : doi.org/10.1038/s41590-020-00826-9.
- 9 Leeb RT, Price S, Sliwa S, et al. COVID-19 Trends Among School-Aged Children – United States, March 1-September 19, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2020;69:1410-5.
- 10 Arora RK, Joseph A, Van Wyk J, et al. SeroTracker: a Global SARS-CoV-2 Seroprevalence Dashboard. *Lancet Infect Dis* 2020. Disponible sur : doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30631-9.
- 11 *Li X, Xu W, Dozier M, et al. The Role of Children in Transmission of SARS-CoV-2: A Rapid Review. *J Glob Health* 2020;10:011101.
- 12 **Cai J, Wang X, Zhao J, et al. Comparison of Clinical and Epidemiological Characteristics of Asymptomatic and Symptomatic SARS-CoV-2 Infection in Children. *Viol Sin* 2020:1-8.
- 13 Dingens AS, Crawford KHD, Adler A, et al. Serological Identification of SARS-CoV-2 Infections among Children Visiting a Hospital during the Initial Seattle Outbreak. *Nat Commun* 2020;11:4378.
- 14 **Stringhini S, Wisniak A, Piumatti G, et al. Seroprevalence of Anti-SARS-CoV-2 IgG Antibodies in Geneva, Switzerland (SEROCoV-POP): a Population-based Study. *Lancet* 2020;396:313-9.
- 15 Pollan M, Perez-Gomez B, Pastor-Barriuso R, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a Nationwide, Population-based Seroepidemiological Study. *Lancet* 2020;396:535-44.
- 16 Lopez L, Nguyen T, Weber G, et al. Seroprevalence of Anti-SARS-CoV-2 IgG Antibodies in the Staff of a Public School System in the Midwestern United States. *medRxiv* 2020. Disponible sur : doi.org/10.1101/2020.10.23.20218651.
- 17 **West EA, Anker D, Amati R, et al. Corona Immunitas: Study Protocol of a Nationwide Program of SARS-CoV-2 Seroprevalence and Seroepidemiologic Studies in Switzerland. *Int J Public Health* 2020:1-20.

* à lire

** à lire absolument