

MINISTRE DE
L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI



Un Peuple – Un But – Une Foi



Année universitaire : 2021 / 2022

N°.....



TITRE

PREVALENCE DES VARIANTS DU SARS-COV-2
CHEZ LES PERSONNES POSITIVES AU COVID-
19 À BAMAKO / MALI

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 28 Mai 2022, à la Faculté de Pharmacie de Bamako, Mali par :

Mme. OUMOU MAIGA

Pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie
(diplôme d'État)

JURY

PRESIDENT :	Prof. Mahamadou DIAKITÉ
DIRECTEUR :	Dr. Almoustapha Issiaka MAIGA
CO-DIRECTEUR:	Prof. Amadou KONE
MEMBRES DU JURY :	Dr. Antoine DARA
	Dr. Yacouba CISSOKO
	Dr. Djénéba FOFANA

Table des matières

LISTES DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE AU TITRE DE L'ANNEE SCOLAIRE 2021-2022	vi
DEDICACES	xi
REMERCIEMENTS	xii
HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY	xv
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	xxi
LISTE DES FIGURES	xxiii
LISTE DES TABLEAUX.....	xxiii
1. INTRODUCTION.....	1
2. OBJECTIFS.....	4
2.1. Objectif général.....	4
2.2. Objectifs spécifiques.....	4
3. GENERALITES	5
3.1. Épidémiologie descriptive	5
3.1.1. Maladies à coronavirus	5
3.1.2. Structure du SARS-COV-2.....	7
3.1.3. Contexte mondial	9
3.1.4. Au niveau du Mali	19
3.2. Épidémiologie analytique	20
3.2.1. Facteurs de risque de la maladie à coronavirus	20
3.2.2. Moyens de lutte et de prévention contre la COVID-19	21
4. MATERIEL ET METHODES	23
4.1. Matériel.....	23
4.1.1. Site d'étude	23
4.1.2. Population d'étude	23
4.1.3. Type et période d'étude	24
4.1.4. Échantillonnage.....	24
4.1.5. Outils de collecte de données.....	25
4.1.6. Collecte des données.....	26
4.1.7. Gestion et analyses des données	26
4.1.8. Considérations administratives et aspects éthiques	27

4.2.	Méthodes.....	27
4.2.1.	Identification des différents variants du SARS-COV-2.....	27
4.2.2.	Estimation des proportions des variants du SARS-COV-2	34
4.2.3.	Méthode de construction de l’arbre phylogénétique des variants du SARS-COV-2	34
4.2.4.	Établissement de la cartographie des variants du SARS-COV-2 circulant à Bamako	35
5.	RESULTATS.....	36
5.1.	Résultats généraux	36
5.2.	Résultats descriptifs	37
5.2.1.	Répartition des participants en fonction du sexe	37
5.2.2.	Distribution des participants en fonction de l’âge	38
5.2.3.	Pyramide des âges de la répartition des participants	39
5.2.4.	Symptomatologie	40
5.3.	Résultats analytiques.....	42
5.3.1.	Mutations génomiques observées	42
5.3.2.	Distribution des variants en fonction de la période de diagnostic	43
5.3.3.	Comparaison entre l’évolution de la situation nationale et l’apparition des variants dans notre période d’étude.....	44
5.3.4.	Phylogénie.....	45
5.3.5.	Cartographie des variants répertoriés.....	46
6.	COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS.....	48
6.1.	Analyses descriptives.....	48
6.2.	Données analytiques	49
6.3.	Limites de l’étude	51
7.	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	52
7.1.	Conclusion	52
7.2.	Perspectives.....	52
7.3.	Recommandations.....	52
8.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	55
9.	ANNEXES.....	58
9.1.	Annexe 1 : Les séquences des huit couples de primers utilisées pour le séquençage ..	58
9.2.	Annexe 2 : Applied Biosystems 7500 Fast.....	58
9.3.	Annexe 3 : Diagramme de Gantt	59

9.4.	Annexe 4 : Base de données Nextstrain (Nextclade).....	59
9.5.	Annexe 5 : AB 3500 Genetic Analyser.....	60
9.6.	Annexe 6 : Électrophorèse sur gel d'agarose 1% (Tampon TAE).....	60
9.7.	Annexe 7 : Arbre phylogénique de nos échantillons séquencés (forme radiale).....	61
9.8.	Annexe 8 : Vaccinology Certificate of completion	62
9.9.	Annexe 9 : Fiche Signalétique	63
	Serment de Galien.....	65

LISTES DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE AU TITRE DE L'ANNEE SCOLAIRE 2021-2022

ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE , Professeur

Vice-doyen : Sékou BAH, Maître de conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des finances

PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
4	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
5	Souleymane	DIALLO	Bactériologie-Virologie
6	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
7	Ousmane	DOUMBIA	Chimie Thérapeutique
8	Boukassoum	HAIDARA	Législation
9	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
10	Alou A.	KEITA	Galénique
11	Mamadou	KONE	Physiologie
12	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
13	Brehima	KOUMARE	Bactériologie-Virologie
14	Abdouramane S.	MAIGA	Parasitologie
15	Saïbou	MAIGA	Législation
16	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
17	Mahamadou	TRAORE	Génétique
18	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

PROFESSEURS DÉCÉDÉS

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Moussa	SANOOGO	Gestion

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. Professeur / Directeur de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Abdoulaye	DABO	Biologie / Parasitologie
3	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie - Génétique
4	Alassane	DICKO	Santé Publique

Prévalence des variants du SARS-COV-2 chez les personnes positives au COVID-19 à Bamako, Mali.

5	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie – Mycologie
6	Amagana	DOLO	Parasitologie – Mycologie
7	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/ Nutrition
8	Ousmane	KOITA	Biologie Moléculaire
9	Boubacar	TRAORE	Parasitologie - Mycologie

2. Maitre de conférences / Maitre de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
2	Almoustapha Issiaka	MAIGA	Bactériologie – Virologie
3	Kassoum	KAYENTAO	Santé Publique/ Bio-statistique
4	Bourèma	KOURIBA	Immunologie CHEF DER
5	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
6	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique
7	Ousmane	TOURE	Santé Publique/ Santé environnementale

3. Maitre assistants / chargé de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie – Virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiètè	BISSAN	Biologie clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie Clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique
6	Antoine	DARA	Biologie moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie – mycologie
8	Djeneba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie microbienne
10	Kletigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S.A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOITA	Biochimie Clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie – Virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé publique
16	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie cellulaire
17	Fanta	SANGHO	Santé publique / Santé communautaire
19	Oumar	SANGHO	Épidémiologie

4. Assistant / Attaché de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Djeneba	COULIBALY	Nutrition/ Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Épidémiologie
4	Merepen dit Agnes	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEITA	Santé publique / Santé environnementale

6	N'deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANAGALY	Parasitologie - Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. Professeur / Directeur de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. Maître de conférence / Maître de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Néant	Néant	Néant

3. Maître-assistant / chargé de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
6	Mahamane	HAÏDARA	Pharmacognosie
7	Hamma Boubacar	MAIGA	Galénique
8	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. Assistant / Attaché de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutiques
2	Daouda Lassine	COULIBALY	Pharmacognosie
3	Adama	COULIBALY	Pharmacognosie
4	Sekou	HAÏDARA	Pharmacognosie
5	Assitan	MAIGA	Législation
6	Ahmed	SANOGO	Législation
7	Aichata Ben Adam	TOGOLA	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation
9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutiques
12	Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
13	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. Professeur / Directeur de Recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Benoit Yaranga	KOUMARE	Chimie analytique Chef de DER
2	Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie

2. Maitre de conférences / Maitre de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie

3. Maitre-assistant / chargé de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Chimie Thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie Thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie analytique
6	Hamadoun abba	TOURE	Bromatologie

4. Assistant / Attaché de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
3	Blaise	DACKOUO	Chimie analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdourahmane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Bechir	NACO	Chimie analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. Professeur / Directeur de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie CHEF DE DER

2. Maître de conférences / Maître de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée

3. Maître-assistant/ Chargé de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique- Biologie végétale
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
3	Boureima	KELLY	Physiologie médicale

4. Assistant / Attaché de recherche

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie Organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba	COULIBALY	Droit commercial
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Moussa I	DIARRA	Biophysique
7	Babacar	DIOP	Chimie Organique
8	Aboubakary	MAIGA	Chimie Organique
9	Modibo	SANGARE	Anglais
10	Satigui	SIDIBE	Pharmacie vétérinaire
11	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie- Embryologie
12	Fana	TANGARA	Mathématiques
13	Djenebou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
14	Mamadou B.	TRAORE	Physiologie
15	Boubacar	ZIBÉIROU	Physique

DEDICACES

Je dédie ce travail, tout d'abord à Allah, Ar Rahman, Ar Rahim, Celui qui rend toute chose possible par Sa grandeur. Merci pour ma vie ainsi que celles de toutes ces personnes qui ont contribué à l'élaboration de ce document .

Ensuite, à mes deux précieux et adorables parents Ina Salimata TRAORE épouse MAIGA et Oussoumane MAIGA, pour avoir rendu tout ceci possible en veillant sur moi et en m'offrant une éducation de qualité nonobstant les périples de nos vies et mes frasques de jeunesse. Vous êtes le soutien dont tout enfant rêve. Je me sens si chanceuse et fière d'avoir franchi cette étape de ma vie avec vous à mes côtés. J'ai foi qu'on aura encore plein de succès à célébrer et que ceci n'est que le début. Qu'Allah As' Samad vous accorde le bonheur de nous voir (mes sœurs et moi) devenir vos plus belles réussites. Recevez tout mon amour et ma reconnaissance.

Pour finir à mes trois merveilleuses sœurs, Asséta, Djénéba et Jamila Natou MAIGA, (mes trésors), je ne saurais décrire les émotions auxquelles je fais face en écrivant ces lignes tant elles sont au-delà de toutes expressions possibles. Toutes les trois avez contribué comme une seule personne à la réalisation de ce rêve qu'on partage ensemble depuis toutes petites : celui d'accomplir au mieux la destinée à laquelle Ya Allah, Al Malik nous a rattachées en devenant de véritables valeurs ajoutées pour notre communauté. Qu'Allah nous garde fortes et unies. Je vous aime.

Dédicace spéciale à ma grand-mère, Professeur Titulaire Nathalie N'guessan WAOTA épouse TRAORE, celle qui par son calme et son brillant parcours m'a inconsciemment mené à mon attrait pour les sciences de la santé. Longue vie à toi mémé Natou.

Pour vous, je m'attèlerais à prier afin que vos vies soient émaillées de bonheur et de paix. Je vous aime.

REMERCIEMENTS

Remerciement spécial au Mali, pays qui a vu naître mes ancêtres et m'a ouvert ses bras depuis mon retour aux sources. L'hospitalité et la bienveillance sont les expressions qui décrivent le mieux mon séjour sur ses terres.

À Prof. Amadou KONÉ et son équipe du laboratoire de Biologie moléculaire avec à sa tête Dramane DIALLO (mon encadreur). Merci pour chacune de ces heures passées à m'inculquer de nouvelles connaissances ainsi que pour la disponibilité dont vous avez constamment fait preuve. J'ai énormément appris à vos côtés. À l'ensemble du personnel de l'UCRC, tous, avez d'une manière ou d'une autre contribué à l'élaboration de ce document. Merci infiniment.

À Dr. Amadou Sékou TRAORE, sans qui cette thèse n'aurait ni eu lieu, ni été parachevée. Merci pour la fermeté dont tu as fait preuve envers moi quand, acculée par mes tribulations j'ai trainé les pas. Grâce à ton esprit avisé, je peux me targuer de faire partie du "gratin" en matière de formation scientifique car ayant bénéficié de tes enseignements et conseils. Merci pour l'intérêt que tu as accordé à ma réussite. Qu'Allah te récompense et bénisse ta petite famille.

À mon adorable grande sœur feu Fatoumata MAIGA dit TOBO, il n'y'a pas meilleurs témoignages d'amour que ceux que j'ai reçu de ta famille, ton entourage et toi à mon arrivée au Mali ce 7 Janvier 2015. Tu restes de loin ma meilleure rencontre de ces huit dernières années. Les voies d'Allah étant insondables, je m'en tiendrais aux douahs à ton encontre et continuerais de porter dans mon cœur, chaque instant passé en ta précieuse compagnie. « Inna lilahi wa ina lilahi' raji'un » ; « À Allah nous appartenons, à Lui nous retournerons. ». Ô Allah bénit la famille qu'elle a laissé derrière elle et accorde leur les bénéfices des sacrifices auxquels elle a consenti.

À la grande famille MAIGA, descendant du roi Boikar MAIGA dit Boikar Souroukou, infiniment merci. Que notre famille ne cesse de prospérer par la grâce d'Allah Le tout Haut. Remerciements spéciaux à mes deux grands frères Oumar MAIGA dit Papa Bouréïma et Moussa MAIGA dit Sah (ainsi que sa femme Kiyatou SY MAIGA et son fils aîné Abba Sah

MAIGA), je n'oublierais jamais les personnes formidables que vous avez été. Cette réussite est aussi la vôtre.

To Mr. Cyrille BLÉ aka Malik, I can't wait to tell you that I am done with this part of my life. More adventures are waiting for us. May God pour bless upon us. Thank you for your incredible support and your kindness.

À ma communauté, l'Amicale des Étudiants Ivoiriens (AEI) au Mali pour votre fraternité ; et particulièrement à Dr. Seydou SAMASSI et Dr. Marc LEHIE BI. Je vous dois ma réussite au numerus clausus ainsi que les bénéfices qu'elle a engendré dans ma vie. Vous avez fait preuve d'un extrême dévouement quand il s'est agi de m'aider financièrement et moralement au moment où j'en avais le plus besoin. Un « Merci » serait insuffisant pour vous exprimer ma gratitude.

À l'ensemble de la 12ème promotion du numerus clausus section pharmacie, les jeunes étudiants que nous étions en 2015 sommes devenus d'éminent(e)s pharmacien(ne)s à qui je souhaite le meilleur du meilleur. Je ne vous oublierai pas.

À mes ami(e)s de la FMOS/FAPH de Bamako, Serges Alex YAO, Ornella TRA, Sanata OUATTARA, Marie-Paule SORO, Youssouf COULIBALY, Jean GUETABA, Fatouma DEMBELE, Fatouma KANTE, Lalla MAIGA, Aminata DOUMBIA, Nana MODIBO, Aminata GORO, Mariam SIDIBÉ, quel honneur de vous avoir rencontré ! Ce fut un fabuleux voyage plein d'embûches qu'on a gravi avec succès. Le meilleur reste à venir. Excellentes carrières à nous.

À mes amis d'Abidjan, Naïlath MARCOS, Nouférégo COULIBALY épouse SILUÉ, Amandine OLAHAN, Olivia TANON, Sonia OLAHAN épouse AKANZA, Mariam DOUMBIA épouse TUO, l'école est finie ! J'ai hâte de vous retrouver mes précieuses sœurs. Merci pour votre loyauté.

À mes petites sœurs (et mes « filles » chéries), Josy GABA, Marie-Lucrese KOUAMÉ, Mayaka CISSÉ, Binta KRAMA, Safiatou DIABY, Maïmouna SEKONGO, Emmanuella AFANOU et

*ma jumelle **Annah CISSÉ**, Je vous souhaite énormément de bonheur. Que Dieu guide vos pas et vous accorde le meilleur. Je vous fais plein de câlins.*

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

À notre Maître et Président du jury de notre thèse : Professeur Mahamadou DIAKITÉ

- Professeur Titulaire d'immunologie et de Génétique à la Faculté de Pharmacie (FAPH) de Bamako au Mali ;
- Chef du Laboratoire Immunogénétique et Parasitologie de l'ICER-Mali ;
- Vice-recteur de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) ;
- Directeur Scientifique Adjoint du Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) de Bamako, Mali ;
- Secrétaire Permanent du Comité d'Éthique de la FMOS/FAPH et membre du Comité d'éthique national pour la santé et les sciences de la vie.

Cher Maître,

Vous nous faites un honneur d'accepter de présider notre travail, malgré vos nombreuses occupations à la tête de toutes ces prestigieuses institutions dont fait partie l'UCRC et dont vous êtes l'actuel Directeur scientifique.

Nous avons été chanceux de bénéficier de vos enseignements, de vos conseils et suggestions.

La promptitude avec laquelle vous avez accepté de nous accompagner malgré vos nombreuses responsabilités témoignent de votre intérêt pour la réussite des étudiants de la faculté de pharmacie.

Cher maitre, recevez l'expression de notre profond respect.

À notre Maître et juge : Docteur Antoine DARA

- Docteur en Pharmacie ;
- PhD en Microbiologie Moléculaire et Immunologie ;
- Maitre-assistant en Biologie Moléculaire à la FAPH/USTTB

Cher Maître,

Merci infiniment pour le travail que vous avez abattu en si peu de temps pour nous guider dans l'élaboration de ce document. Votre intérêt pour notre travail et vos conseils pour le peaufiner et ont été d'une grande aide pour nous.

Recevez, cher maître nos chaleureux remerciements.

À notre Maître et juge : Docteur Yacouba CISSOKO

- Docteur en Médecine ;
- Master et MBA en Sciences ;
- Responsable au Département des Maladies Infectieuses, Université des Sciences, Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) ;
- Chargé de Recherche en épidémiologie, immunologie et maladies infectieuses.

Cher Maître,

Nous sommes très reconnaissants d'avoir pu bénéficier de votre diligence, de votre disponibilité et de votre expertise.

Ce fut un réel honneur pour nous d'avoir pu tirer parti votre gout pour le travail bien fait.

Permettez-nous de vous exprimer notre gratitude et recevez nos hommages.

À notre Maître et juge : Docteur Djénéba FOFANA-KAMPO

- Docteur en Pharmacie
- PhD en Virologie Clinique
- Maitre assistante de Bactériologie-Virologie a la FMOS
- Pharmacienne Biologiste consultante
- Diplômée d'assurance qualité au laboratoire de Biologie Médicale

Cher Maître ,

Vous avez malgré la distance été prompte à nous guider dans la confection de ce document, à nous guider, à nous donner des conseils adéquats qui ont contribué à rendre notre document meilleur.

Nous vous remercions infiniment pour votre disponibilité.

À notre Maître et Co-Directeur de thèse : Professeur Amadou KONÉ

- Maître de conférences en Biologie moléculaire et cellulaire de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies (USTTB) de Bamako au Mali ;
- Enseignant-chercheur de Biologie moléculaire et cellulaire à la Faculté des Sciences et Techniques (FST) de Bamako au Mali ;
- Chef d'unité de Biologie moléculaire et cellulaire au Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) à l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) ;
- Membre certifié en biosécurité et bio sûreté de la Fédération Internationale des Associations de Biosécurité (IFBA) ainsi que de plusieurs associations et organisations dans le domaine de la Biologie et du Génie Génétique ;
- Président de la Commission Nationale d'Organisation de la Fête des Sciences au Mali.

Cher maître,

Nous vous remercions infiniment pour cette opportunité que vous nous avez donné de travailler à vos côtés au sein de votre brillante unité du laboratoire de Biologie moléculaire de l'UCRC.

Merci pour les nombreuses autres voies que vous avez ouverts devant nous, tant dans le domaine de la biologie que dans celui de la génie génétique, de la vaccinologie, de la Bio-informatique et de la génomique ; uniquement motivé par votre envie de nous voir gravir les échelons à votre image.

Il ne nous reste plus qu'à vous faire honneur en tachant d'exceller et témoigner ainsi du bon maître que vous avez été pour nous.

Qu'Allah étende sa baraka sur votre famille et vous donne les mérites (ici-bas et dans l'au-delà) de toutes ces bonnes actions que vous avez eu à notre égard durant la période qu'a duré notre formation.

À notre Maître et Directeur de thèse : Docteur Almoustapha Issiaka MAIGA

- Maître de recherche à la Faculté de Pharmacie (FAPH) de Bamako au Mali, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB)
- Chef de Département de Biologie Médicale du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Gabriel Touré à Bamako au Mali;
- Responsable de l'unité d'épidémiologie moléculaire de résistance du VIH aux ARV au Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) de Bamako ;
- Secrétaire General, de l'Association Africaine de lutte contre la Résistance aux Antimicrobiens (AAARAM) ;
- Membre de plusieurs sociétés savantes internationales sur le VIH dans le monde ;

Cher maître,

C'est avec beaucoup de reconnaissance que je vous écris ces quelques lignes pour vous remercier pour votre encadrement, vos conseils, vos encouragements, votre rigueur. Vous avez, comme tous les autres docteurs et professeurs énormément contribué à réveiller en nous l'envie d'exercer et d'exceller dans ce noble domaine qu'est celui de la recherche scientifique.

Votre intérêt pour l'excellence, le dynamisme et le travail bien fait ont été les meilleurs atouts dont nous avons pu bénéficier au cours de notre formation au sein de la Faculté de Pharmacie ; mais aussi dans les locaux de l'UCRC. Nous prions donc pour que notre motivation actuelle évolue de façon exponentielle au fil des années en vue de faire votre fierté mais surtout la fierté de la sous-région ouest-africaine et africaine.

Nous vous souhaitons de vivement continuer à briller sous protection d'Allah le Tout Haut.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ACE 2	Angiotensin Converting Enzyme 2 (Enzyme de Conversion de l'Angiotensine 2)
BDT v3.1	Big Dye Terminator Version 3.1
BSL-3	Biosafety Laboratory Level 3 (Laboratoire de biosecurité niveau 3)
CDC	Centers for Disease Control and prevention (ou Centres de controle et de prévention des maladies)
COVID-19	Coronavirus Disease 2019 (Maladie à Coronavirus 2019)
CSREF	Centre de Santé de Référence
CT (value)	Cycle Threshold (Valeur seuil du cycle)
CY5	Cyanine 5 (fluorophores)
EPC	Équipements de Protections Collectives
EPI	Équipements de Protections Individuelles
FFP 2,3	Filtering Face Piece (Pièce faciale filtrante)
GISAID	Global Initiative on Sharing all Influenza Data (Initiative mondiale pour le partage de toutes les données sur la grippe)
HCSP	Haut Conseil de Santé Publique
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses (Comité international sur la taxonomie des virus)
INED	Institut National d'étude démographique
INSP	Institut National en Santé Publique
MRTC	Malaria Research and Training Center (Centre de recherche et de formation sur le paludisme)
MERS-COV	Middle East Respiratory Syndrome Related Coronavirus (Coronavirus lié au syndrome respiratoire du Moyen-Orient)
NIAID	National Institute of Allergy and Infectious Disease (ou Institut national des allergies et des maladies infectieuses)
OIE	Organisation Internationale des Épizooties (de la santé animale)
ORF	Open Reading Frame (Cadre de lecture ouvert)

RDRP	SARS-COV-2 RNA-dependent RNA Polymerase (ARN polymérase ARN-dépendant du SARS-COV-2)
RT	Reverse Transcriptase (ou Transcriptase inverse)
RT-qPCR	Real Time Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérase quantitative en chaîne en temps réel)
SARS-COV-2	Severe Acute Respiratory Syndrom of Coronavirus 2 (Syndrome respiratoire Aigu Sévère du Coronavirus 2)
SDR	Syndrome de Détresse Respiratoire
SIDA	Syndrome d'Immuno Déficience Acquise
SIG	SARS-COV-2 Interagency Group (Groupe inter-agences sur le SARS-COV-2)
SII	Serum Institute of India (Institut indien du sérum)
TMPRSS2	Serine Protéase Transmembranaire 2
VIC	Valeur du contrôle interne
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VOC	Variant Of Concern (Variant préoccupant)
VOI	Variant Of Interest (Variant d'intérêt)
VUM	Variant Under Monitoring (Variant sous Contrôle)
UCRC	University Clinical Research Center (Centre Universitaire de recherche Clinique)
USTTB	Université des Sciences, des Techniques et des Technologiques de Bamako
UTR	Untranslated Region (Région non-transcrite)
WHO	World Health Organisation (Organisation Mondiale de la santé)

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Origines zoonotiques probables du SARS-COV-2	6
Figure 2 : Structure schématisée du SARS-COV-2	8
Figure 3 : Structure du génome du SARS-COV-2	9
Figure 4 : Structure de la protéine S du SARS-COV-2	11
Figure 5 : Arbre phylogénétique des variants du SARS-COV-2, Base de données Nextstrain, consultée en janvier 2022	14
Figure 6 : Représentation schématique de l'arbre bronchique	15
Figure 7: Mécanisme de l'infection des cellules pulmonaires par le SARS-COV-2	15
Figure 8: Cartographie des cas de COVID-19 au Mali, par rapport au reste du monde, janvier 2022	20
Figure 9: Représentation graphique d'une courbe d'amplification des cibles RdRp et N du SARS-COV-2 (courbe verte)	31
Figure 10 : Diagramme de démarche du choix de nos échantillons	36
Figure 11 : Diagramme de la répartition des échantillons en fonction du sexe	37
Figure 12: Pyramide de la répartition des participants de l'étude en fonction du sexe et de l'âge	39
Figure 13 : Prévalence des variants dans notre population d'étude	42
Figure 14: Répartition des clades en fonction des dates de diagnostic	43
Figure 16 : Comparaison entre les cas enregistrés au Mali et ceux détectés à l'UCRC dans la période d'avril à octobre 2021	44
Figure 17 : Arbre phylogénétique représentatif de nos échantillons séquencés	45
Figure 18 : Cartographie de la répartition des variants du SARS-COV-2 dans les communes du district de Bamako entre avril et octobre 2021	46

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification des coronavirus responsables d'infections humaines	7
Tableau 2: Programme de l'amplification par RT-PCR	30
Tableau 3: Tableau résumant le mix de la PCR classique avec le kit fast virus one-step	32
Tableau 4: Tableau résumant la composition du mix BDTv3.1	33
Tableau 5: Tableau résumant le mix BDX	33
Tableau 6 : Tableau représentant les participants en fonction des âges	38
Tableau 7 : Répartition des participants en fonction des symptômes observés	40
Tableau 8 : Tableau des symptômes régulièrement répertoriés	41

1. INTRODUCTION

La maladie à coronavirus est une pathologie systémique à manifestations pulmonaires, responsable à la date du 2 avril 2022, du décès de 6 112 637 personnes à l'échelle mondiale et de l'infection de plus 460 millions de personnes au cours de ces trois dernières années (2019, 2020 et 2021) [1].

Déclarée « pandémie » le 11 mars 2020 [2] du fait de sa rapide propagation dans le monde, elle a, depuis son apparition au cours de l'hiver 2019 en Chine, dévasté les systèmes de santé à l'échelle mondiale et plongé le monde dans une énorme crise sanitaire et économique.

Le virus responsable de la maladie est maintenant nommé « SARS-COV-2 », sigle anglais signifiant « *Severe Acute Respiratory Syndrom of Coronavirus 2* » ou Syndrome Respiratoire Aigü Sévère du Coronavirus 2 en français.

Méconnu dans le monde scientifique au moment de son apparition, il fut tout d'abord appelé le « 2019-nCov » (*2019 novel-coronavirus* ou nouveau coronavirus 2019), nomination proposée par le « *International Comittee on Taxonomy of Viruses* » (ICTV) de la Chine. Sa dénomination fut ensuite modifiée en « SARS-COV-2 » le 11 Février 2020, toujours par l'ICTV, conformément aux directives formulées par l'Organisation Internationale des Épizooties (OIE) [3]. Ce virus s'est avéré génétiquement proche du coronavirus responsable de la flambée de SARS en 2003, d'où la similitude de leurs désignations. Le SARS-COV-2 est identifié comme un virus à ARN ou ribovirus, appartenant à la famille des *Coronaviridae* et au genre des *Bêtacoronavirus*. Il s'agit d'un virus enveloppé, à ARN sous forme monocaténaire de polarité positive. Sa structure moléculaire est constituée de nombreuses protéines (29 protéines virales au total), dont la glycoprotéine de surface S ou « *Spike protein* » responsable de son immunogénicité. Cette protéine représente le site de fixation du virus aux récepteurs de surface des pneumocytes de type 2 nommés récepteurs ACE 2 (*Angiotensin-Converting Enzyme 2* ou Enzyme de Conversion de l'Angiotensine 2) et à la protéase TMPRSS2 (*Serine Protéase Transmembranaire 2*) [4].

Différentes vagues d'infection à COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*) ont été enregistrées dans le monde depuis le début de la pandémie. Elles ont été rythmées par des périodes présentant des taux élevés d'infectiosité, suivies d'autres périodes durant lesquelles on enregistrait une atténuation de la transmissibilité du pathogène. L'hypothèse selon laquelle le SARS-COV-2 aurait subi des modifications structurales notamment au sein de sa séquence génomique a ainsi été formulée. Elle a été confirmée et expliquée par l'étude de son génome dans lequel on a observé l'émergence de séquences génomiques différentes de celles du génome de la souche originale de Wuhan (génome de référence). Ce sont des mutations des séquences génomiques virales qui se présentent généralement sous forme de substitutions ou de délétions survenant majoritairement au niveau du gène codant pour la protéine S (*Spike*), induisant ainsi certaines modifications structurales chez cette dernière [5]. On distingue de ce fait, plusieurs mutations aboutissant à l'identification de multiples variants dont les variants désignés sous les noms suivants dans la littérature : alpha, bêta, delta, gamma, éta, epsilon, thêta, kappa etc. [6] et plus récemment (en fin de l'année 2021) le variant omicron [6–8].

Le nombre de nouveaux cas accroît chaque jour drastiquement et les proportions des variants du virus varient d'une zone géographique à l'autre. En effet, à la date du 26 décembre 2021, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), dans son point hebdomadaire sur la COVID-19, évaluait à 5 millions (soit une hausse de 11%) le nombre de nouveaux cas recensés ; puis au soir du 24 janvier 2022, approximativement 2,9 millions de nouveaux cas y ont été ajoutés, amenant ainsi à 349 641 119 le nombre total de cas confirmés [9] [10]. En ce qui concerne les données statistiques du continent africain, à la date du 24 janvier 2022, l'agence sanitaire de l'Union Africaine (U.A) estimait qu'environ 9,5 millions de personnes ont contracté la maladie (soit 3,3% du nombre total de cas de COVID-19 à l'échelle mondial) [11], dont 65 nouveaux cas recensés au Mali [12].

Notons aussi que la croissance exponentielle du nombre de cas positifs enregistrés quotidiennement dans le monde en 2021 suggère d'une part, que les systèmes de santé ont beaucoup de mal à venir à bout de cette pandémie et d'autre part, que le taux de récurrence à la maladie semble important. Selon les données tirées d'une étude sud-africaine, la réinfection d'une personne ayant préalablement été testée positive au COVID-19 est d'autant plus possible

que de nouveaux variants sont détectés. Le taux de réinfection des personnes ayant déjà été positives au COVID-19 dans leur échantillon est d'environ 5% [13].

Force est de constater que la maladie à coronavirus avec ses différentes vagues, a mis en exergue les limites des systèmes de santé les plus élaborés au monde. La recrudescence de la propagation du virus aussi bien que l'augmentation du taux de réinfection à l'échelle mondiale comme cité plus haut, rendent difficiles aussi bien la prise en charge thérapeutique de la maladie que son éradication.

Notre étude visera dans un premier temps la détermination des mutations au sein des séquences génomiques du SARS-COV-2, conduisant à l'identification des variants dudit virus ; puis dans un second temps l'évaluation quantitative de la prévalence de ces variants chez les personnes positives au SARS-COV-2 par RT-PCR à Bamako au Mali. Ce travail nous permettra de déterminer et dénombrer les variants du virus responsable de la maladie à coronavirus 2019 circulant à Bamako, de les regrouper en différentes classes et groupes puis d'estimer leur répartition au sein de la population étudiée dans l'optique de comprendre l'évolution de ces variants et d'apporter des solutions relatives à la riposte contre la maladie à coronavirus-19 au Mali.

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

Évaluer la prévalence des variants du SARS-COV-2 chez les personnes positives au COVID-19 par RT-PCR à Bamako, Mali.

2.2. Objectifs spécifiques

- Identifier les variants du SARS-COV-2 circulant à Bamako dans notre période d'étude allant du 19 avril au 31 octobre 2021 ;
- Estimer les prévalences des variants du SARS-COV-2 identifiés à Bamako pendant notre période d'étude ;
- Déterminer la diversité génétique du SARS-COV-2 en faisant la phylogénie de ses variants ;
- Établir une cartographie des variants du SARS-COV-2 répertoriés dans la ville de Bamako pendant notre période d'étude.

3. GENERALITES

3.1. Épidémiologie descriptive

3.1.1. Maladies à coronavirus

On définit la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) comme une infection sévère aiguë des voies respiratoires causée par un coronavirus. Les premiers coronavirus ont été identifiés dans les années 1960 dans le cadre de l'expansion d'infections respiratoires hautes (rhume) qui semblaient bénignes. Au Royaume-Uni, des travaux des Docteurs J. Almeida et D. Tyrrell [14] sur des échantillons de volontaires, notamment la souche nommée B814, ont permis d'identifier le premier coronavirus dit « humain », susceptible d'infecter l'espèce humaine. Plusieurs virus du même type ont successivement fait leur apparition. L'observation de leurs structures au microscope électronique donna suite à la désignation des espèces de ce genre sous le nom de « *coronavirus* » au cours de l'année 1967. Cette dénomination regroupe en son sein diverses espèces ayant en commun de multiples caractéristiques dont le plus prédominant est l'aspect de leur membrane externe. Celle-ci est visible sous forme de halo ou couronne « *Corona* » au microscope électronique d'où l'appellation issue du latin attribuée à ce genre, signifiant littéralement « virus couronné » [15].

La maladie à coronavirus de 2019 est qualifiée de zoonose virale car à l'instar de la maladie du SIDA (Syndrome de l'Immunodéficience Acquis) causée par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine), l'agent pathogène, le SARS-COV-2, a lui aussi été transmis à l'homme par un animal vertébré. L'hôte intermédiaire de ce virus reste méconnu à ce jour. Toutefois, plusieurs hypothèses tendent à désigner la chauve-souris notamment l'espèce *Rhinolophus affinis* comme probable réservoir d'un virus (un Sarbecovirus de chauve-souris – RaTG13) de structure génomique proche à 96% du SARS-COV-2 [16]. Le coronavirus isolé chez les pangolins de Guangdong quant à lui possède des régions beaucoup plus proches du SARS-COV-2 que ceux des chauves-souris. Ils ont de ce fait été qualifiés d'hôtes intermédiaires [17] [18].

L'hypothèse d'une possible infection des animaux par l'homme, nommée « *reverse zoonosis* », a été émise et fait l'objet de recherches avisées [17].

La Figure 1 détaille les origines zoonotiques hypothétiques du SARS-COV-2 et la probable possibilité pour les êtres humains de transmettre le virus aussi bien à des animaux vertébrés (domestiques ou non) tels que les chiens, qu'à des animaux invertébrés comme le serpent.

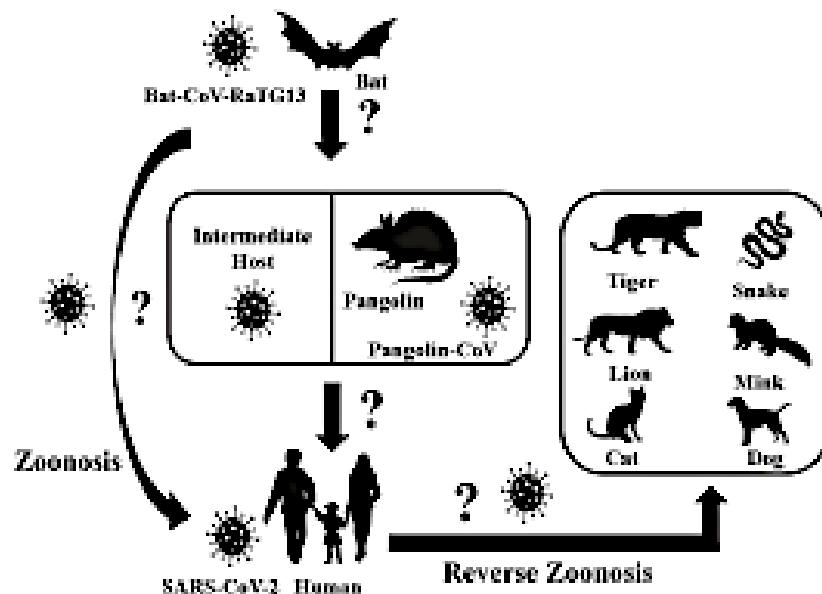


Figure 1: Origines zoonotiques probables du SARS-COV-2

[17]

Au sein du genre Bêtacoronavirus sont répertoriés différents types d'espèces responsables d'infections animales et /ou humaines. La majorité d'entre elles a été, à des intensités variables, responsable de crises sanitaires notamment des endémies, des épidémies et plus récemment d'une pandémie.

Il s'agit entre autres des espèces :

- SARS-COV,
- MERS-COV (anciennement nCoV ou novel coronavirus) et
- SARS-COV-2 (anciennement nCoV ou novel coronavirus)

Le MERS-COV est l'espèce responsable de l'épidémie du syndrome respiratoire aiguë sévère qui a touché la Chine et une vingtaine d'autres pays en 2012, infecté approximativement 8 000 individus et occasionné environ 800 décès [19]. Le SARS-COV est un autre virus du syndrome respiratoire sévère ayant sévi entre 2002 et 2004 [15]. Puis, récemment le SARS-COV-2,

responsable quant à lui de la pandémie de coronavirus en cours depuis 2019, occasionnant les taux les plus élevés d'infections et de mortalité jamais enregistrés par les espèces du genre Bêta-coronavirus [20]. Il n'existe que sept souches de coronavirus humains découverts à ce jour. Le tableau ci-dessous répertorie les différentes espèces issues de la famille des Coronaviridae, susceptibles d'infecter l'espèce humaine :

Tableau 1 : Classification des coronavirus responsables d'infections humaines

[15]

GENRES	SOUS-GENRES	ESPECES
<i>Alphacoronavirus</i>	<i>Duvinacovirus</i>	HCoV-229 ^E
	<i>Setracovirus</i>	HCoV-NL63
<i>Betacoronavirus</i>	<i>Embecovirus</i>	HCoV-OC43
	<i>Merbecovirus</i>	HCoV-HKU1
	<i>Sarbecovirus</i>	MERS-COV
		SARS-COV-1
		SARS-COV-2

3.1.2. Structure du SARS-COV-2

3.1.2.1. Définition

Appartenant au groupe IV de la classification de Baltimore, le SARS-COV-2 ou Syndrome respiratoire aigu sévère associé au coronavirus 2 est un ribovirus à ARN monocaténaire linéaire (non segmentée) de 29,9 Kb (Kilo bases) [21]. Il s'agit d'une nouvelle souche de coronavirus qui, comme les autres virus de la même famille, se présente sous une forme arrondie avec une enveloppe issue de leur activité cellulaire et une capsidie ou nucléocapsidie recouvrant le matériel génétique à base d'ARN). Son enveloppe virale apparaît au microscope électronique parsemée de polymères lui donnant un aspect auréolé. Son matériel génétique présente une polarité positive ; c'est-à-dire que la séquence des gènes de l'ARN viral est pareille que celle de l'ARN messenger et peut donc être directement traduite en protéines. Son pouvoir pathogène accru

découle du fait que ce type de virus produit des protéines sans utiliser de catalyseur tel que l'ARN polymérase ARN-dépendant [21].

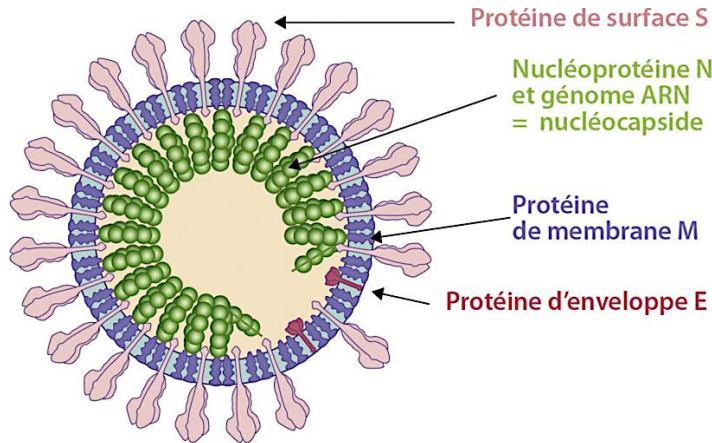


Figure 2 : Structure schématisée du SARS-COV-2

[22]

3.1.2.2. Aspect génomique du SARS-COV-2

L'étude de la composition du génome du SARS-COV-2 a permis de mettre en évidence la présence de nombreux gènes, régions et sites, impliqués pour la plupart autant dans la structure du virus (protéines formant certaines parties du virus) que dans son fonctionnement (c'est-à-dire qui interviennent dans la réplication virale, le pouvoir infectieux etc.) (Fig. 3)

On distingue entre autres :

- les régions ORF (*Open Reading Frame* ou *cadre de lecture ouvert*) : ORF1a, ORF1b. Les cadres de lecture ouverts du génome du SARS-COV-2 sont de deux types. Le premier type code pour 16 protéines non structurales, tandis que le deuxième type code pour des protéines de structure et des protéines accessoires ;
- les gènes S, E, M et N qui codent respectivement pour la protéine Spike, la protéine d'enveloppe, la protéine de membrane et la protéine de la nucléocapside ;
- la région UTR (*Untranslated Region* ou *région non traduite*) ;
- le domaine RBD (*Receptor Binding Domain* ou *domaine de liaison au récepteur*) ;

- le domaine RBM (*Receptor Binding Motif* ou motif de liaison au récepteur) ;
- le site Ns (*Non Structural*) ;
- les régions TRS-L (*Transcriptional Regulatory Sequencing Leader* ou séquence primaire régulatrice de la transcription) et TRS-B (*Transcriptional Regulatory Sequencing Body* ou séquence corps régulatrice de la transcription).

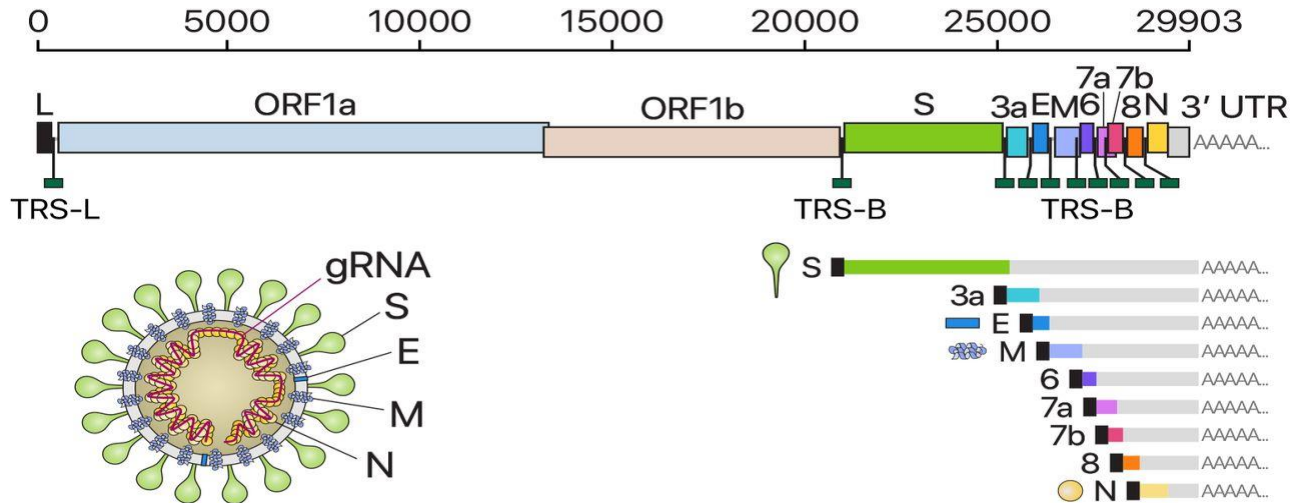


Figure 3 : Structure du génome du SARS-COV-2

[23]

3.1.3. Contexte mondial

3.1.3.1. Contexte historique

L'année 2020 a été perçue comme une année particulièrement éprouvante pour l'espèce humaine du fait de l'émergence de la maladie à coronavirus. Entre août et décembre 2019, la commission sanitaire municipale de Wuhan, dans la province de Hubei en Chine, détecte plusieurs cas de pneumonies d'étiologie inconnue. Les investigations des équipes de chercheurs chinois tentent d'établir une corrélation entre les cas de pneumonies et la consommation de fruits de mer achetés sur le marché de Wuhan. Le 1^{er} janvier 2020, des précautions sont immédiatement prises pour la fermeture de ce marché par le CDC (*Centers for Disease Control and prevention*, ou Centres de Contrôle et de prévention des maladies) de Taiwan, qui représente le centre chargé de la

surveillance des épidémies [24]. Des échantillons alimentaires semblent y avoir été testé positifs à un nouveau coronavirus, d'après la commission sanitaire municipale de Wuhan. Le 9 janvier 2020, le CDC de Taïwan signale que ce nouveau pathogène a été détecté comme étant l'agent infectieux à la base de 15 des 59 cas de pneumonies identifiées. Son génome est rendu public par la Chine le 12 janvier 2020 : il s'agit d'un virus appartenant à la famille des *Coronaviridae* [24]. Les espèces de cette famille doivent leur nom à la structure de leur enveloppe virale qui se présente sous forme de couronne.

Le 11 février 2020, le Comité International de Taxonomie des Virus nomme finalement cet agent le « coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère » ou « SARS-COV-2 », en anglais « *Severe Acute Respiratory Syndrom Coronavirus 2* » [3]. Il s'en suit des campagnes de sensibilisation partout dans le monde avec pour but d'endiguer la propagation du virus.

3.1.3.2. Découverte de la protéine Spike

Il s'agit d'un péplomère, appelé aussi spicule, protéine S ou encore protéine Spike. C'est une glycoprotéine prenant la forme d'une pique sur une capsid virale ou enveloppe virale retrouvée chez les virus. Dans le cas du SARS-COV-2, ces glycoprotéines ressemblent à des champignons émergeant de l'enveloppe virale.

La protéine S joue donc un rôle important dans l'infection par le SARS-COV-2 ainsi que dans l'induction des réponses des anticorps de neutralisation, des cellules T et dans l'immunité protectrice. Elle confère au virus son potentiel infectieux car elle est essentielle à la fois pour la spécificité de l'hôte et l'infectiosité virale [4]. Elle est constituée d'environ 1250 acides aminés et contient deux sous-unités fonctionnelles S1 et S2 incluant respectivement le RBD (*Receptor Binding Domain*) et le RBM (*Receptor Binding Motif*). La sous-unité 1 ou S1 permet la liaison du virus au récepteur de la cellule hôte, tandis que la sous-unité 2 ou S2 contient le peptide de fusion permettant ainsi la fusion de l'enveloppe virale (E) avec la membrane cellulaire. La représentation conformationnelle ci-après détaille la structure des différentes parties fonctionnelles de la protéine S (*Spike*).

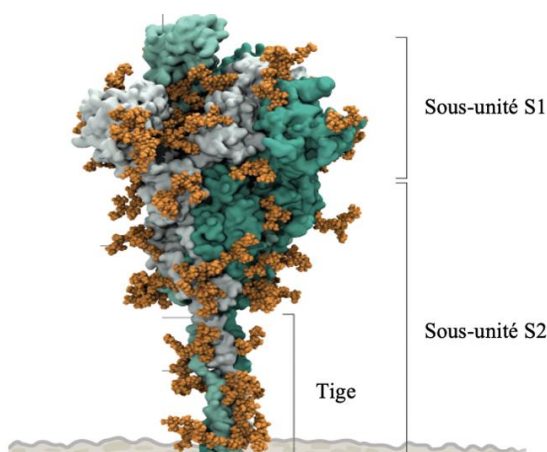


Figure 4 : Structure de la protéine S du SARS-COV-2

[25]

Le SARS-COV-2 utilise une protéine cellulaire nommée l'ACE 2 comme récepteur d'entrée dans la cellule et une autre, la TMPRSS2 (*Serine Protéase Transmembranaire 2*) pour l'amorçage de la protéine S [26]. En effet, la TMPRSS2, protéine régulièrement présente sur les membranes des pneumocytes de type 2, intervient dans le clivage de la protéine S aux sites S1/S2 et le site de fixation à la membrane cellulaire. Elle a un rôle de facilitatrice [4].

3.1.3.3. Classification des variants selon l'OMS

3.1.3.3.1. Catégorisation des variants

Les mutations au sein du génome du SARS-COV-2 sont constamment surveillées par les organisations en charge de la surveillance épidémiologique mondiale. Il s'agit de l'OMS et de ses réseaux internationaux d'experts tels que le CDC. Le principal but de cette surveillance est de réduire la transmission du virus. Les mutations recensées sont classées en types de variants, organisés eux-mêmes en groupes ou classes. La classification des variants du virus du SARS-COV-2 sont mentionnées dans un rapport épidémiologique publié le 22 mars 2022. On distingue désormais 5 classes de variants [27] :

- les variants préoccupants ou VOC ou *Variants of Concerns*,
- les variants d'intérêts (à suivre) ou VOI ou *Variants Of Interests*,

- les variants anciennement préoccupants ou anciennement à suivre VOCs ou VOIs,
- les variants sous surveillance (VUM) et
- les variants anciennement sous surveillance.

Le groupe des VOC regroupe des variants du virus faisant l'objet de surveillance accrue car ils présentent une augmentation de la transmissibilité ou de la virulence (modification du tableau clinique) ou encore une diminution de l'efficacité des outils de santé publique tels que le diagnostic, les vaccins, les traitements... [27]. Les variants Alpha, Bêta, Delta ont été découverts les premières fois respectivement au Royaume-Uni, en Afrique du Sud et en Inde. Le variant Gamma (le plus virulent) quant à lui, a été observé pour la première fois au Japon puis au Brésil. [3]. Ils appartiennent tous au groupe des VOC. Notons l'entrée récente au sein de ce groupe du variant Omicron détecté en Afrique du sud et en Afrique australe [7].

Les VOI quant à eux, sont les variants qui sont susceptibles d'affecter la transmissibilité du virus ainsi que d'empiéter sur la gravité de la maladie et sa prise en charge thérapeutique. Il s'agit entre autres des variants Epsilon, Zêta, Êta, Thêta...[27]. Les VOCs/ VOIs sont les variants préoccupants qui ne présentent plus de risques importants pour la santé publique mondiale. Ils sont dits anciennement préoccupants. Les VUM circulent soit faiblement, soit depuis longtemps avec une incidence faible sur la situation épidémiologique [27].

3.1.3.3.2. Classification scientifique

Dans les revues et articles scientifiques, les variants du SARS-COV-2 sont nommés avec une classification un peu plus complexe. Les variants sont organisés en plusieurs clades ou clusters. et des lettres, des nombres et des chiffres y sont utilisés pour les classer.

Les noms sont donnés en fonction de l'année de d'apparition du variant en question suivi d'une lettre pour désigner le cluster et des initiales du pays dans lequel il a été découvert la première fois [28].

Conditions pour nommer un clade :

- Nombre de cas > 20 % de fréquence globale pendant 2 mois ou plus
- Nombre de cas > 30 % de fréquence régionale pendant 2 mois ou plus
- reconnu comme VOC [28].

3.1.3.4. Répartition géographique des variants du SARS-COV-2 dans le monde

Le cas zéro, détecté à Wuhan a laissé place à une dissémination des cas partout dans le monde. De la date de son apparition à aujourd'hui, la maladie à coronavirus-19 a subi une dissémination exponentielle au fil du temps. On estime allant de continent en continent, élevant les taux d'infection et de létalité. Certaines zones étant beaucoup plus impactées que d'autres. Les différentes formes du virus du SARS-COV-2 apparues au fil du temps sont constamment en expansion. Un variant plus récent fut détecté en Afrique du Sud en octobre 2021. Son apparition a mis le monde en alerte du fait de sa virulence élevée. Il s'agit d'une souche nouvelle nommée "Omicron". Sa découverte est consécutive à une hausse des taux de nouveaux cas enregistrés. De nouvelles dispositions sont prises par les autorités sanitaires en vue d'endiguer sa propagation [7].

Au Mali, le virus est passé d'une activité à bas bruit à une propagation évolutive, responsable d'un nombre croissant d'hospitalisations et de décès.

3.1.3.5. Phylogénie de la souche d'origine

La phylogénie est l'étude des liens de parenté entre les espèces. Un arbre phylogénétique regroupe des caractères dits caractères évolutifs permettant d'établir des clades entre espèces et juger de la promiscuité de leurs caractères ainsi que de leur ressemblance entre eux.

Le graphe ci-dessous montre l'arbre phylogénétique des variants du SARS-COV-2 observés à l'échelle mondiale entre avril 2020 et avril 2021.

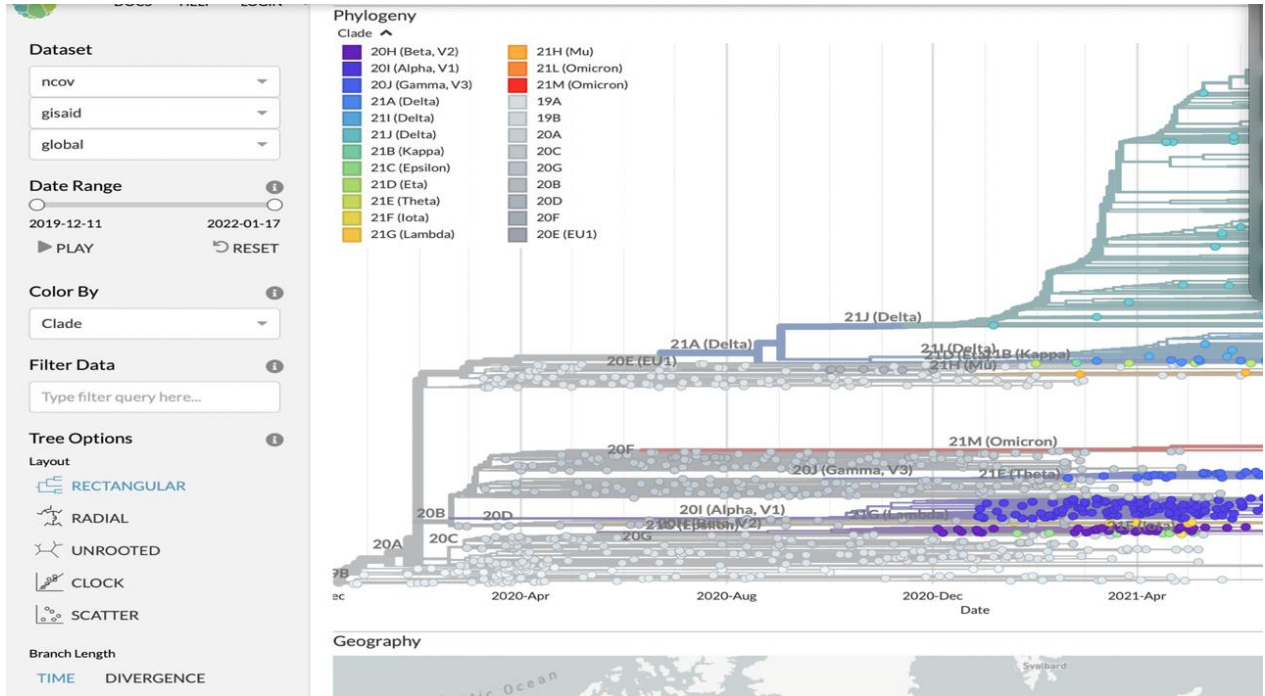


Figure 5 : Arbre phylogénétique des variants du SARS-COV-2, Base de données Nextstrain, consultée en janvier 2022

3.1.3.6. Physiopathologie

3.1.3.6.1. Anatomie des voies respiratoires

Les voies respiratoires humaines représentent le système en charge des échanges gazeux entre le corps et l'extérieur. Elles sont constituées de deux voies : les voies respiratoires supérieures et les voies respiratoires inférieures. Les voies respiratoires supérieures sont dites extra thoraciques et sont constituées du nez, des fosses nasales, de la bouche et du pharynx. Les voies respiratoires inférieures ou voies intra thoraciques, ou encore arbre bronchique, sont quant à elles constituées du larynx, la trachée, les bronches (souches et lobaires), les bronchioles, les conduits et sacs alvéolaires.

L'arbre bronchique est la partie des voies respiratoires la plus impliquée dans l'infection à coronavirus-19. En effet, les parois des alvéoles pulmonaires sont constituées des pneumocytes de type 2 qui représentent les cellules majoritairement attaquées par le SARS-COV-2 lors de son entrée dans l'organisme.

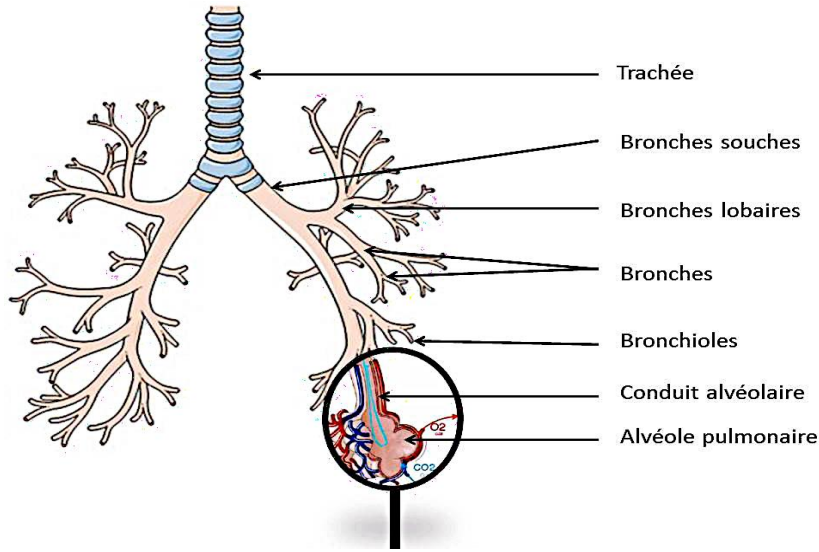


Figure 6 : Représentation schématique de l'arbre bronchique [29]

3.1.3.6.2. Mécanisme physiologique de l'infection par SARS-COV-2

L'infection par SARS-COV-2 s'effectue comme suit (voir figure ci-dessous) :

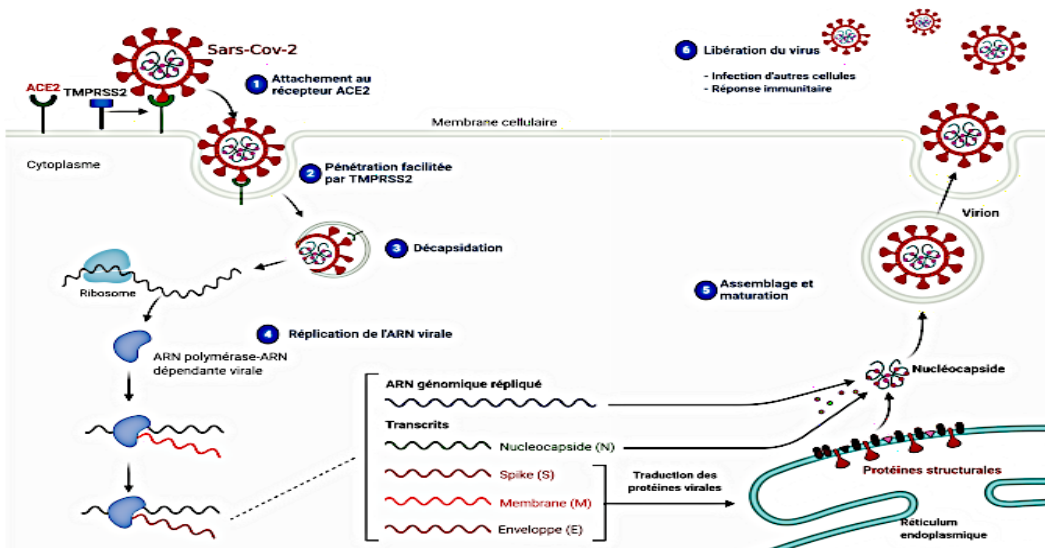


Figure 7: Mécanisme de l'infection des cellules pulmonaires par le SARS-COV-2

[30]

Le cycle de vie du SARS-COV-2 s'effectue en trois principales étapes : l'entrée dans la cellule, la réplication du matériel génétique viral et la libération des nouveaux virions.

L'entrée du matériel viral, comme pour toute particule qualifiée de parasite intracellulaire, débute par la reconnaissance d'un récepteur. Le ACE 2 joue le rôle de récepteur d'entrée. La protéine S s'attache par le biais de ses domaines RDB et RDM, entraînant ainsi sa modification conformationnelle issue du clivage des sous-unités S1 et S2 par la TMPRSS2. En effet, après l'étape dite de l'amorçage à la membrane des pneumocytes de type 2 enclenchée par la S1 est suivie de la fusion des deux membranes (cellulaire et virale) induite par le réarrangement structural de la protéine S au niveau de la sous-unité S1.

La réplication virale est l'étape consécutive à l'entrée virale. Il s'agit en fait d'un détournement de la machinerie cellulaire pour la production de nouvelles particules virales. Elle consiste en la traduction du gène de la réplicase en polypeptides (pp1a et pp1ab), la production de protéines (RdRp) formant le complexe CRT « Complexe de Transcription et Réplication » et la transcription des gènes codant pour les protéines virales (E, M, N et S) [31].

La libération des nouveaux virions pour finir les particules virales néoformées sont acheminées via le REG et l'appareil de Golgi vers des vésicules de sécrétion pour être libérées par exocytose [32].

3.1.3.6.1. Mécanisme immunologique de l'infection par SARS-COV-2

L'infection par SARS-COV-2 s'accompagne d'une lyse ou mort cellulaire programmée consécutive à la libération des virions néoformés [33]. La présence des virions dans l'organisme est détectée par les cellules dendritiques et/ou les macrophages. Ce qui déclenche la réaction inflammatoire généralisée par libération des cytokines (l'interleukine (IL)-1 β), des interférons de type 1 (IFN α , IFN β), et des chimiokines s'accompagnant d'une augmentation des polynucléaires neutrophiles [34]. Le déclenchement de l'immunité adaptative s'ensuit et des lymphocytes T (CD4 et CD8) ainsi que des lymphocytes B (présentant des anticorps spécifiques au virus) sont produits [35].

3.1.3.7. Manifestations cliniques de la COVID-19

L'infection au SARS-COV-2 se traduit par différents stades et manifestations cliniques. Le tableau clinique varie des formes asymptomatiques aux formes les plus graves telles que le syndrome de détresses respiratoires (SDR). Les principaux symptômes observés sont par ordre croissant de gravité la toux sèche, la fièvre, les céphalées, des manifestations (troubles) gastro-intestinales, des difficultés et insuffisances respiratoires dans les cas les plus graves [36]. L'apparition de ces symptômes (constituant la phase d'invasion virale) est précédée dans la majorité des cas d'une phase d'incubation allant de 3 à 5 jours et est généralement suivie d'une phase dite « dysimmunitaire » se traduisant par une diathèse hémorragique (ou trouble de la coagulation) .

Une étude française publiée le 27 mars 2020 [1] décrit trois types de malades :

- Patients présentant peu de signes cliniques mais avec une charge virale nasale élevée et étant très contagieux ;
- Patients ayant des symptômes légers au départ mais subissant une aggravation vers le dixième jour avec apparition d'un syndrome respiratoire aigu sévère malgré une charge virale qui diminue ; la réaction immunitaire au niveau pulmonaire ne serait plus régulée ;
- Patients avec une aggravation rapide vers un syndrome respiratoire aigu avec persistance d'une charge virale élevée dans le nez et dans la gorge, suivit de l'apparition d'une virémie sanguine à SARS-COV-2 provoquant une défaillance multi-viscérale conduisant au décès. Ce troisième type concerne majoritairement les personnes âgées [3].

3.1.3.8. Diagnostic biologique de la maladie

La détection du SARS-COV-2 chez un patient suspect se fait par l'analyse du prélèvement d'un écouvillon naso ou oropharyngé. Ces analyses sont la RT-PCR (réaction de polymérisation en chaîne avec la transcriptase inverse) et les tests antigéniques (ELISA). Toutefois, la radiographie

thoracique, la tomodensitométrie (TDM) sont aussi considérées comme des outils appropriés pour le diagnostic des personnes atteintes de COVID-19 [22]

3.1.3.9. Prise en charge thérapeutique de la COVID-19

Selon le protocole établi par l'OMS en 2020, les schémas thérapeutiques des malades de la COVID-19 dépendent du stade de la maladie. La prise en charge thérapeutique de la « COVID-19 bénigne » (entendons par là les cas les moins graves) se fait par traitement symptomatique, celle de la « COVID-19 modérée » (les cas moyennement graves) par traitement de la pneumonie et celle des cas de « COVID-19 sévère » (les cas critiques ou très graves) par traitement de la pneumonie sévère [3]. Le traitement des formes asymptomatiques, quant à lui, se fait par isolation des personnes concernées en vue d'éviter une propagation de la pathologie par contamination [37].

L'OMS et ses partenaires ont mis sur pied en fin avril 2020, un dispositif pour accélérer l'accès aux outils de lutte contre la COVID-19 dénommé Accélérateur ACT. L'Accélérateur ACT est organisé en 4 axes de travail : les produits de diagnostic; les traitements; les vaccins et le renforcement du système de santé [38]. Ce dispositif a pour but de :

- réduire rapidement le taux de mortalité et les formes graves de la maladie à coronavirus-19 ;
- de protéger les systèmes de santé durement éprouvés par la pandémie à l'échelle mondiale, de rétablir à brève échéance l'activité sociale et économique mondiale ;
- et de faciliter à moyen terme un niveau de contrôle élevé de la COVID-19.

Les traitements sont de divers ordres. On a la **thérapie antivirale** (Molnupiravir, Remdesivir, Lopinavir, Favipiravir, Baricitinib, Ribavirine, Hydroxychloroquine et Chloroquine) ; **thérapie par productions d'anticorps neutralisants anti SARS-COV-2** ; **thérapie par agent immuno-modulateurs** (Corticoides, Anticorps monoclonaux de récepteurs anti IL-6, Interferons- β -1a (IFN- β -1a), Antagonistes de l'interleukine IL-1.) [39].

Toutefois, les vaccins mis en place pour prévenir la maladie a coronavirus ont permis de ralentir l'avancée de la maladie induisant la réduction de l'infectiosité et la morbidité.

3.1.4. Au niveau du Mali

Dès l'apparition du virus des mesures préventives ont été mises en place par le gouvernement malien. Il s'agissait entre autres de mesures pour des diagnostics rapides et accentuer la prise en charge thérapeutique des cas détectés.

Le mardi, 08 décembre 2020, une équipe de chercheurs dirigée par le Professeur Abdoulaye DJIMDE, responsable du laboratoire MRTC-Parasito (*Malaria Research and Training Center- Département de Parasitologie*) a révélé la composition du génome du virus de la COVID-19 présent au Mali. Cette découverte avait pour but d'établir pour la première fois, une cartographie des virus circulant au Mali en vue de déterminer comment les détruire à l'aide de vaccins ou de médicaments. Le séquenceur utilisé, le *MiSeq System de Illumina*, a permis de montrer que le virus prélevé à Bamako et celui prélevé à Tombouctou ont des séquences différentes ; aussi que ces deux virus ont des mutations qu'on ne trouve pas dans les virus observés en Occident [40]. Par ailleurs, le laboratoire de biologie moléculaire de l'UCRC a été équipé d'un séquenceur de type Applied Biosystems® SANGER 3500 Genetic Analyzers, qui leur a aussi permis de leur côté de déterminer certaines séquences provenant de variant du virus détecté au Mali.

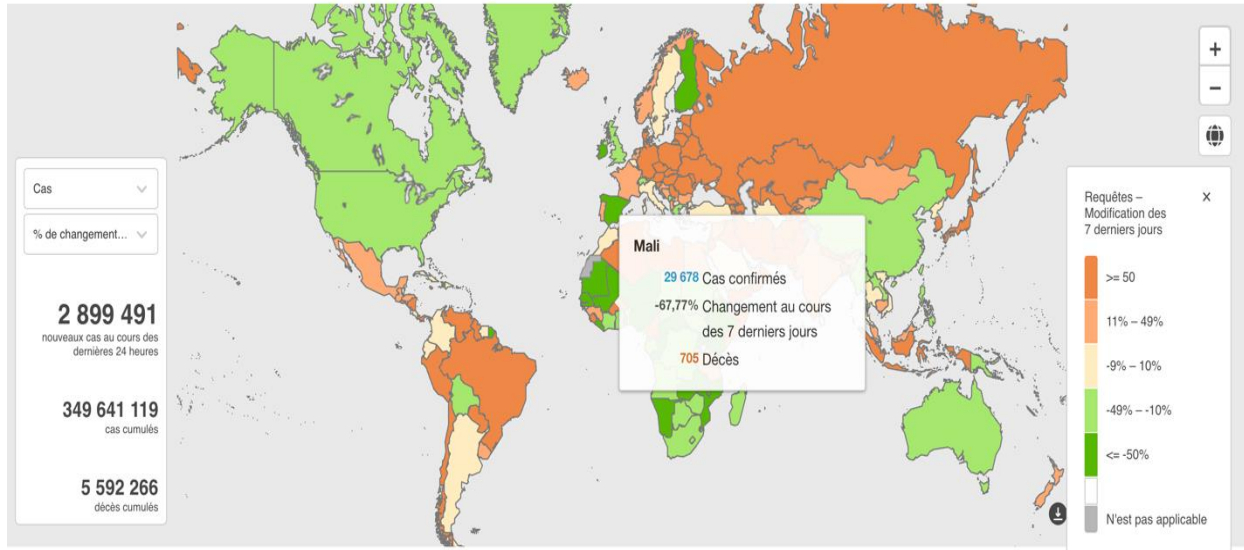


Figure 8: Cartographie des cas de COVID-19 au Mali, par rapport au reste du monde, janvier 2022

[10]

3.2. Épidémiologie analytique

3.2.1. Facteurs de risque de la maladie à coronavirus

Nonobstant le fait que toutes les couches de la société soit susceptibles de développer la maladie à coronavirus, il est important de mentionner que les comorbidités (système immunitaire défaillant dû à la présence dans leur organisme d'autres agents infectieux, le diabète, l'hypertension artérielle), les personnes vulnérables (le personnel de santé, les femmes enceintes, les personnes en surpoids, l'âge avancé etc.) et le sexe masculin sont les facteurs de risques majeurs [4].

3.2.2. Moyens de lutte et de prévention contre la COVID-19

3.2.2.1. Moyens de lutte : Campagne vaccinale

La vaccin est le principal moyen de lutte employé contre la COVID-19. Depuis l'avènement de la pandémie, plusieurs essais ont permis de mettre sur le marché des vaccins avec pour ultime but la maîtrise de l'expansion de la maladie. Une maîtrise se caractérisant par une réduction de la morbidité et la mortalité de la maladie. L'ONU estime à environ 95% le taux d'efficacité attribuable aux vaccins actuellement administré aux populations [41]. La plupart de ces vaccins ciblent la protéine S et permettent à l'organisme de se familiariser afin de fabriquer des anticorps contre cette dernière. Les vaccins autorisés par les autorités sanitaires sont entre autres : Pfizer-BioNtech (vaccin à ARN) ; Moderna (vaccin à ARN), Covaxin (vaccin à virus inactivé) ; Oxford-Astrazeneca (vaccin à vecteur viral) ; Convidecia et Janssen (vaccin à vecteur viral viral), SinoVac, Sputnik V. [41] etc.

Le pourcentage de la population mondiale ayant reçu au moins une dose de vaccin est estimée à 64,6% à la date du 05 avril 2022 et au total 11,33 milliards de doses ont été administrées dans le monde [42]. En Afrique, à la date du 3 février 2022, plus de 587 millions de doses de vaccins contre la COVID-19 ont été administrées aux populations, dont 58 % via le mécanisme COVAX, 36 % dans le cadre d'accords bilatéraux et 6 % par l'intermédiaire du Fonds Africain pour l'acquisition des vaccins (AVAT) créé par l'Union africaine [43].

Au Mali, le vaccin AstraZeneca AZD1222 produit par *Serum Institute of India* (SII) a été retenu pour l'administration aux populations en priorisant les couches vulnérables ou à risques (personnels de santé, personnes âgées ou personnes à déficience immunitaire), suivit du reste de la population. De mars 2021 à mars 2022, environ 2,31 millions de doses de vaccin ont été administrées aux populations maliennes, ce qui constitue un taux de vaccination étendu à 84% [44]

3.2.2.2. Mesures préventives contre la COVID-19

Les mesures préventives restent les meilleurs moyens de lutter contre la propagation de la maladie a coronavirus-19. Il s'agit entre autres des séries de mesures suivantes :

- proscrire tout contact physique (distanciation physique d'au moins 1mètre) ;
- hygiène fréquente des mains avec de l'eau et du savon ou avec un désinfectant (solution hydro alcoolique ou eau de Javel dilué à 0,05%) ;
- port de masques (préférentiellement lorsqu'on est en présence de plusieurs personnes),
- éternuer dans le coude ;
- nettoyage régulier des surfaces publiques (les poignées des portes, Les boutons d'ascenseurs, les robinets, ...) avec des désinfectants (eau de Javel concentré entre 3 - 9%). Le SARS-COV-2 en présence soit de peroxyde d'hydrogène à 0,5 %, ou d'hypochlorite de sodium à 0,1 %, ou encore d'éthanol à 62 - 71 % est désagrégé et n'est plus contagieux ;
- aérer les espaces fermés ;
- se rendre chez un médecin rapidement en cas de malaises, fièvre, toux, difficultés respiratoires...[3].

4. MATERIEL ET METHODES

4.1. Matériel

4.1.1. Site d'étude

Cette étude a été menée au sein de l'unité de Biologie moléculaire du laboratoire du Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC). Les différents prélèvements nous provenaient de sept sites principaux, à savoir :

- L'Hôpital du Mali ;
- L'Hôpital du Point G ;
- L'Hôpital de Kati ;
- L'Hôpital dermatologique de Bamako (ex CANAM) ;
- Le Centre de santé de référence (CSREF) de Kati ;
- Les Centres de Santé de Référence (CSREF) des communes III, IV et VI ;
- L'INSP (Institut Nationale de la Santé Publique) ;
- L'UCRC (University Clinical Research Center).

Elle s'inscrivait dans le cadre d'une surveillance épidémiologique nationale faisant suite à la survenue de la pandémie de COVID-19 dans le monde. Elle consistait à tester les échantillons reçus afin d'y détecter ceux qui étaient éligibles pour le programme du séquençage génomique viral.

4.1.2. Population d'étude

Les individus concernés par cette étude étaient à la fois des hommes et des femmes de toutes classes d'âge. Les données ont été recueillies sur des sujets dits « cas suspects » suivis ainsi que des cas déjà diagnostiqués positifs au COVID-19, présentant ou non des symptômes.

4.1.3. Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale et observationnelle. La collecte des échantillons a eu lieu dans la période du 19 avril au 31 octobre 2021.

4.1.4. Échantillonnage

4.1.4.1. Type d'échantillons

Nous avons utilisé des prélèvements (écouvillonnage) nasopharyngés et / ou oro-pharyngés sur des patients ou cas suspects (cas contact ou pas) de COVID-19, provenant des sites de collecte de l'UCRC.

4.1.4.2. Taille de l'échantillonnage

L'échantillonnage concernait tous les cas de COVID-19 confirmés au sein de l'UCRC présentant des charges virales élevées (CT value < 29 cycles). Au total 430 échantillons sur les 1160 réceptionnés et déclarés positifs par le laboratoire de l'UCRC dans notre période d'étude, respectaient les conditions d'inclusion à notre étude et y ont été inclus.

4.1.4.3. Critères d'inclusion et de non-inclusion

- **Critères d'inclusion** : était inclus dans notre étude tout sujet ayant ou pas certains des signes cliniques cités précédemment, avec d'une part un échantillon testé positif au COVID-19 au sein du Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) dans notre période d'étude ; et d'autre part une valeur CT strictement inférieure à 29 cycles (CT value < 29 cycles), ainsi qu'un volume d'ARN $\geq 50\mu\text{l}$.
- **Critères de non-inclusion** : était exclu de notre étude tout sujet ayant ou pas certains des signes cliniques cités précédemment, présentant un échantillon testé positif au COVID-19 au sein du Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) dans notre

période d'étude avec une valeur CT supérieure ou égale à 29 cycles (CT values ≥ 29), ainsi qu'un volume d'ARN $\leq 50\mu\text{l}$.

4.1.5. Outils de collecte de données

Un protocole a été établi afin d'être mis en œuvre dans des laboratoires de biosécurité niveau 3 et 2 (BSL3 ET BSL2), dans lesquels nous avons utilisé plusieurs outils et matériels (appareils, équipements et réactifs) comme énuméré ci-après :

- Des équipements de protections individuelles (EPI) tels que
 - blouses à usage unique ;
 - masques (FFP2, FFP, etc.) ;
 - gants de protection jetables ;
 - chaussures de laboratoire ;
 - visières ou lunettes de sécurité.

- Des outils classiques de laboratoire tels que des
 - tubes Eppendorf ;
 - colonnes ;
 - pipettes et micropipettes ;
 - embouts et cônes pour pipettes (1000 μL , 200 μL , 10 μL) ;
 - portoirs de laboratoire (racks) pour tubes et colonnes ;
 - hottes à flux laminaire ;
 - plaques pour la PCR et la RT-PCR.

- Des kits
 - kits d'extractions (Top viral, Norgen, Samsure);
 - kits pour la RT-PCR (kit Argène, kit Fast virus) ;
 - kits de purification (Exo Sap IT et BDX) ;
 - kit de séquençage Big Dye Terminator v3.1 ;
 - poudre d'agarose ultrapure ;

- eau distillée.

- Des automates (machines)
 - machine pour RT-PCR (Real Time Polymerase Chain Reaction): 7500 Fast Dx
 - machine pour le séquençage (ABI 3500 genetic Analyzer)
 - centrifugeuses (Eppendorf centrifuge 5415 D)
 - vortex (ou agitateurs vibrants pour mélange des solutions)
 - appareils de migration pour l'électrophorèse de l'ADN sur gel d'agarose
 - distillateur d'eau

4.1.6. Collecte des données

La collecte de données a été réalisée à partir de renseignements cliniques (données socio-démographiques des personnes testées) grâce aux registres médicaux et aux résultats biologiques après RT-PCR et séquençage.

4.1.7. Gestion et analyses des données

Les données obtenues ont d'abord été collectés sous forme de fiches, puis stockées dans un fichier Microsoft® Excel 2019 version 16.60, ensuite analysées avec le logiciel graph pad Prism version 9 et pour finir ont été interprétées grâce au logiciel variant reporter version 3. Il s'agissait d'analyses statistiques réalisées pour déterminer les caractéristiques sociodémographiques de notre population d'étude, les corrélations entre les paramètres tels que le sexe, l'âge ainsi que la répartition des différents variants déterminés. L'arbre phylogénétique a été construit à partir du développeur Nextclade de la plateforme en ligne Nextstrain version 1.14.1. La cartographie quant à elle a été réalisée avec le logiciel Quantum GIS 3.24 Tisler (QGIS 3.24). Les résultats de notre étude ont été présentés sous forme de tableaux, graphes, diagrammes et cartes.

4.1.8. Considérations administratives et aspects éthiques

Notre étude se présentait dans le cadre d'une surveillance nationale portant sur la pandémie de COVID-19. L'autorisation administrative des autorités sanitaires ainsi que les consentements et / ou assentiments individuels de chaque participant à l'étude ont été acquis après soumission au comité d'éthique institutionnel de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) basée à la faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie (FMOS). Il s'agissait d'une étude à risque minimal car ne consistant pas à des essais cliniques ou utilisation de substances médicamenteuses ou à usage biomédical mais s'appuyait plutôt sur des tests de diagnostic utilisés majoritairement en routine dans les centres de recherche clinique. La collecte, les traitements d'échantillons et les tests ont été effectués selon les bonnes pratiques de laboratoire. L'anonymat des participants a été pris en compte et respecté scrupuleusement.

4.2. Méthodes

4.2.1. Identification des différents variants du SARS-COV-2

Nous avons suivi consécutivement les étapes suivantes :

- Prélèvements et transports des échantillons : les prélèvements ont été effectués au sein des différents centres de santé de référence et hôpitaux impliqués dans l'étude, puis transportés au sein de l'UCRC ;
- Inactivation et extraction du matériel génétique (ARN) ;
- Analyse par RT-PCR : elle a été faite à partir de l'automate AB7500 fast en utilisant le kit Argène du laboratoire BioMérieux,
- Isolation par amplification de la région d'intérêt : elle concerne le gène S du virus car les mutations répertoriées dans le génome des variants du SARS-COV-2 y sont majoritairement retrouvées,
- Cycle de séquençage et séquençage génomique : nous avons employé la méthode de Sanger avec l'instrument AB3500 Genetic Analyzer,
- Analyse des séquences et interprétation des résultats obtenus : le programme utilisé était le BDX_Rapid_Seq_50POP7_Z.

4.2.1.1. Détection du SARS-COV-2 par la RT-PCR

4.2.1.1.1. Extraction du matériel génétique (ARN) : protocole modifié du kit Top viral (voir les annexes pour le protocole original)

Ajout de 96 ml de l'Éthanol pure au Wash buffer (WB5) avant la première utilisation.

Dans le BSL3 : *Inactivation des échantillons*

- Transférer 200µl de l'échantillon dans un microtube Eppendorf® de centrifugation stérile de 1.5ml ;
- Ajouter 300µl de BB5 et 20µl de la protéinase K ;
- Mélanger bien avec le vortex ;
- Laisser incuber dans un bain marie à 56°C (degrés Celsius) pendant 20 minutes et mélanger simultanément à l'aide du vortex ;
- Centrifuger et ajouter 300µl de l'éthanol pure ;
- Mélanger à l'aide du vortex pour 15 secondes à température ambiante.

Dans le BSL2 : *Extraction (purification par chromatographie, lavage et élution) des échantillons*

- Transférer le contenu du tube Eppendorf® dans des tubes en colonne silica gel et centrifuger à 12.000xg pour 1minute et jeter la colonne de rechange ;
- Ajouter 500µl de WB5, et répéter la même action que précédemment ;
- Répéter cette action 3 fois ;
- Puis centrifuger à vide pour enlever toute trace d'éthanol dans le tube ;
- Placer la colonne dans un tube Eppendorf® stérile de 1.5ml et y ajouter 80µl de RNase-free water (eau pure stérile) au milieu de la colonne et laisser incuber à température ambiante pour 1minute ;
- Faire centrifuger à 12,000xg pendant 1 minute pour faire l'élution de l'échantillon ;
- Conserver l'ARN purifiée à -80°C (pour une meilleure conservation).

4.2.1.1.2. Préparation du mélange réactionnel (master mix) : kit Argène

Elle s'effectue dans la zone aseptisée du laboratoire pour éviter tout risque de contamination du mélange réactionnel. Elle s'est faite selon les étapes suivantes :

- Dilution du RT (Reverse Transcriptase) : au $1/10^{\text{ème}}$ c'est-à-dire $1\mu\text{l}$ de la solution RT + $9\mu\text{l}$ d'eau purifié InvitrogenTM (ou $15\mu\text{l}$ de RT + $135\mu\text{l}$ d'eau)
- Mix (dans la salle de master mix) :
 - Pour un échantillon : $15\mu\text{l}$ de la solution RO1 + $0,15\mu\text{l}$ de la solution de RT préalablement dilué ;
 - Pour N échantillons : $N \times [15\mu\text{l}$ de la solution RO1 + $0,15\mu\text{l}$ de la solution de RT préalablement dilué].

NB : La chaîne de froid doit être respectée pendant toute la manipulation mais surtout lors de l'utilisation des enzymes (*primers*)

4.2.1.1.3. Préparation de la plaque PCR

Quinze microlitres ($15\mu\text{l}$) du mix préparé préalablement est reparti dans chaque puits de la plaque auquel on ajoute $10\mu\text{l}$ de l'échantillon d'ARN à l'extérieur de la salle du master mix. On recouvre ensuite la plaque d'une fine couche de plastique protectrice (*Optical Adhesive Film*) et on l'insère dans la machine AB7500 fast real time pour entamer la RT-PCR.

4.2.1.1.4. Programmation de la machine 7500 real time

La programmation de la machine se fait comme conférer dans le tableau suivant :

Tableau 2: Programme de l'amplification par RT-PCR

Étapes	Description	Température	Temps	Cycle
Stage 1	Rétrotranscription	50 °C	05 minutes	1 X
Stage 2	Activation	95 °C	15 minutes	1 X
	Dénaturation	95 °C	10 secondes	45 X
Stage 3	Hybridation	60 °C	40 secondes	
	Synthèse / Élongation	72 °C	25 secondes (Data collection)	

4.2.1.1.5. Interprétations des résultats de la RT-PCR

Les résultats se présentent sous forme de courbes colorées. Chaque courbe représente un *dye* (ou fluorochrome associé à une cible moléculaire) amplifié.

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes principalement intéressés aux sites ou gènes cibles (dont la détection est associée aux dyes) suivants :

- Gène N (FAM), représente une région du virus qu'on amplifie ;
- Gène RdRp (CY5), représente un gène du virus ;
- Contrôle interne ou IC (VIC) qui permet de vérifier la présence ou non du matériel génétique humain afin de s'assurer que l'étape de l'extraction s'est bien passée.

On obtient des courbes comme sur la Figure 9:

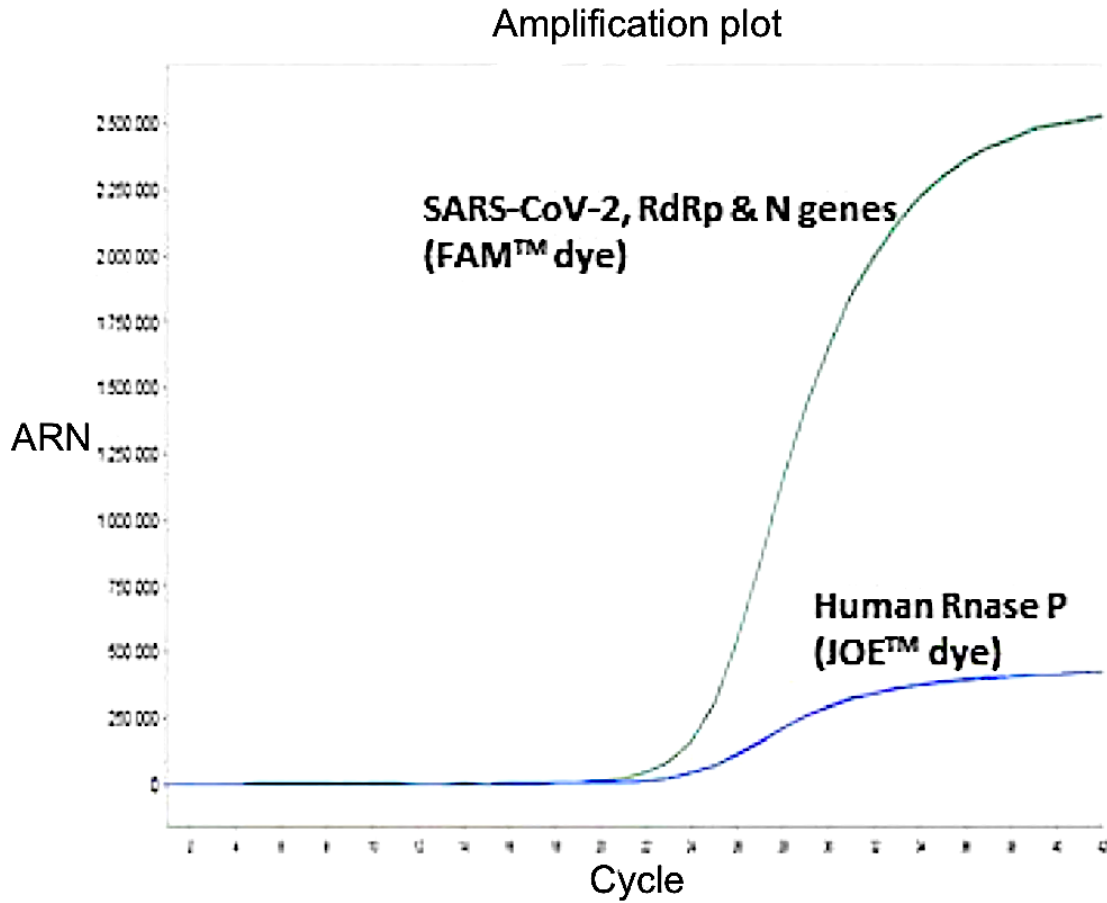


Figure 9: Représentation graphique d'une courbe d'amplification des cibles RdRp et N du SARS-COV-2 (courbe verte)

La courbe verte est celle d'un échantillon ayant une charge virale moyennement élevée de SRAS-COV-2 tandis que la courbe de couleur bleue représente un échantillon de contrôle interne confirmant la présence de l'ARN humain dans l'échantillon testé.

4.2.1.2. Protocole du séquençage

4.2.1.2.1. La PCR

Il s'agissait de faire une amplification du matériel génétique viral avec le kit Fast virus one-step, en vue de faciliter l'isolation des régions d'intérêt (région couvrant la protéine S) sur les

amplicons obtenus. Le tableau 3 résume les composants du mélange réactionnel et les quantités utilisées.

Tableau 3: Tableau résumant le mix de la PCR classique avec le kit fast virus one-step

	Pour N = 1	Pour N = n (avec n>1)
Mix	5 µL	5 x n µL
H2O	8 µL	8 x n µL
Primer F	1 µL	n µL
Primer R	1 µL	n µL
ARN	5 µL	5 x n µL

N étant le nombre d'échantillons

4.2.1.2.2. Isolation de la région S du virus

Les mutations des différents variants du SARS-COV2 étant majoritairement rapportées au niveau de la région S de la glycoprotéine de surface virale et qui se lie à la protéine ACE2 de l'hôte lors de l'infection. Dans cette étude, nous avons commandé 8 couples d'amorce pour amplifier des segments chevauchants afin de couvrir tout le gène S du virus et chaque échantillon a été testé avec les 8 couples successivement par PCR avec le kit fast virus one-Step.

Après cette PCR, l'électrophorèse sur gel d'agarose utilisant le tampon TAE nous permettait de confirmer la présence des amplicons par les 8 bandes représentant chacune des couples d'amorces cibles. Les échantillons ayant les 8 couples confirmés ont été purifiés avec l'enzyme EXOSAP-IT.

Pour chaque échantillon, nous avons utilisé 2 µL de l'EXOSAP-IT auquel 5 µL de l'amplicon issu de la PCR précédente ont été ajouté.

4.2.1.2.3. Réaction de séquençage

C'est l'étape du séquençage en lui-même, réalisé avec le séquenceur AB3500 Genetic Analyzer (*Applied Biosystems 3500 Genetic Analyser*). Elle consiste à utiliser la méthode du séquençage

de Sanger sur les amplicons dont les 8 couples pour chaque patient ont été confirmés. Cette méthode est utilisée classiquement pour effectuer le séquençage de fragment de petites tailles (900pb). Aux amplicons purifiés préalablement avec le mix de l'EXO SAP-IT, est ajouté le mélange préparé avec le kit BDTv3.1 puis purifiés par le BDX.

Dans les tableaux suivants sont consignés les différentes quantités utilisées :

Tableau 4: Tableau résumant la composition du mix BDTv3.1

Réactifs\ d'échantillon	Nombre N = 1	N = n
BDT Mix	4 µL	4 x n µL
H2O	3 µL	3 x n µL
Primer F	1 µL	n µL
Primer R	1 µL	n µL

Dans chaque puits, on a ajouté 9 µL du mix précédemment préparé et 2 µL du produit PCR purifié avec l'enzyme EXOSAP IT (ADNc).

Tableau 5: Tableau résumant le mix BDX

Réactifs\ Nombre d'échantillon	N =1	N = n
SAM	45 µL	n 45 x µL
Beads (Billes)	10 µL	n 10 x µL

Dans chaque puits, nous avons ajouté un volume de 55 µL de mix (SAM + Beads) qu'on a mélangé au vortex pendant 30 minutes puis centrifugé avant de commencer le séquençage.

Les produits obtenus ont été séquencés dans un programme préenregistré BDX_Rapid_Seq_50POP7_Z.

Le traitement des séquences obtenues et la reconstitution de la séquence consensus du gène S se font avec le logiciel variant reporter version 3.0, tandis que l'analyse et l'interprétation des variants se font grâce à la plateforme Nextstrain version 1.14.1(Nextclade).

4.2.2. Estimation des proportions des variants du SARS-COV-2

Comme mentionné précédemment, un logiciel et une plateforme d'analyse de données ont été utilisés. La base de données GISAID comporte en son sein l'ensemble du génome du SARS-COV-2 des variants et celui de la souche originale. Les séquences obtenues sont racolées grâce à Variant Reporter version 3 sous forme de séquences consensus (pour les aligner la région S obtenu grâce aux 8 couples de primers utilisés). Elles ont ensuite été introduites dans le système de Nextclade et les changements observés dans la structure des régions S des ARN viraux contenus dans chacun de nos échantillons ont été détectées et recensées par le logiciel sous forme de tableau (*voir annexes*). Le GISAID et Nextclade permettent un accès rapide ouvert aux données sur les virus épidémiques et pandémiques, cela comprend la séquence génétique, les données cliniques et épidémiologiques connexes associées aux virus humains, ainsi que les données géographiques et spécifiques.

4.2.3. Méthode de construction de l'arbre phylogénétique des variants du SARS-COV-2

4.2.3.1. Définition

Un arbre phylogénétique est une représentation des liens de parenté entre espèces sous forme d'embranchements. Il est obtenu à partir des analyses et observations de certains paramètres dits matrices de caractères. La plateforme utilisée pour obtenir nos arbres phylogénétiques est Nextclade, un sous-ensemble de Nextstrain qui est une base de données en ligne mise en place pour la surveillance de la maladie.

NB : Bien que les relations génétiques entre les virus échantillonnés soient généralement assez claires, une incertitude considérable entoure les estimations des dates de transmission spécifique et la reconstruction de la propagation géographique.

4.2.3.2. Construction de l'arbre phylogénétique de notre échantillonnage

Il existe différents types d'arbres phylogénétiques : rectangulaire, radiale, non-enracinée, diffuse, etc. Dans notre étude nous avons utilisé majoritairement les arbres à forme radiale et rectangulaire.

Des millions de génomes complets du SARS-CoV-2 sont disponibles et ce nombre augmente chaque jour. La visualisation obtenue sur Nextstrain ne peut traiter qu'environ 4000 génomes dans une seule vue pour des raisons de performance et de lisibilité.

4.2.4. Établissement de la cartographie des variants du SARS-COV-2 circulant à Bamako

La cartographie est un processus de réalisation de cartes géographiques consistant en la représentation de phénomènes (socio-sanitaire dans notre cas) observés sur le territoire de manière graphique et géométrique. Elle se base sur l'analyse de données qualitatives et quantitatives avec pour but de permettre une compréhension rapide, pertinente et concise du problème de santé en question. Dans notre contexte, il s'agissait de l'établissement d'une disposition des variants du SARS-COV-2 observés lors de notre étude, sur une carte du district de Bamako, en vue de répertorier leur distribution géographique. Nous avons utilisé le logiciel Quantum GIS 3.24 Tisler (QGIS 3.24).

Intérêt : Améliorer la surveillance des variants sur le territoire et détecter les zones dans lesquelles s'effectuent le maximum de mutation.

Elle s'est effectuée comme suit :

- Visualisation des données à disposition ;
- Création de cartes à partir des données précédemment visualiser ;
- Analyse des données.

5. RESULTATS

5.1. Résultats généraux

Les échantillons sélectionnés pendant notre étude ont suivi une sélection selon un cheminement précis. Le nombre d'échantillons initialement était de 1160 testés positifs. Les résultats obtenus étaient comme suit :

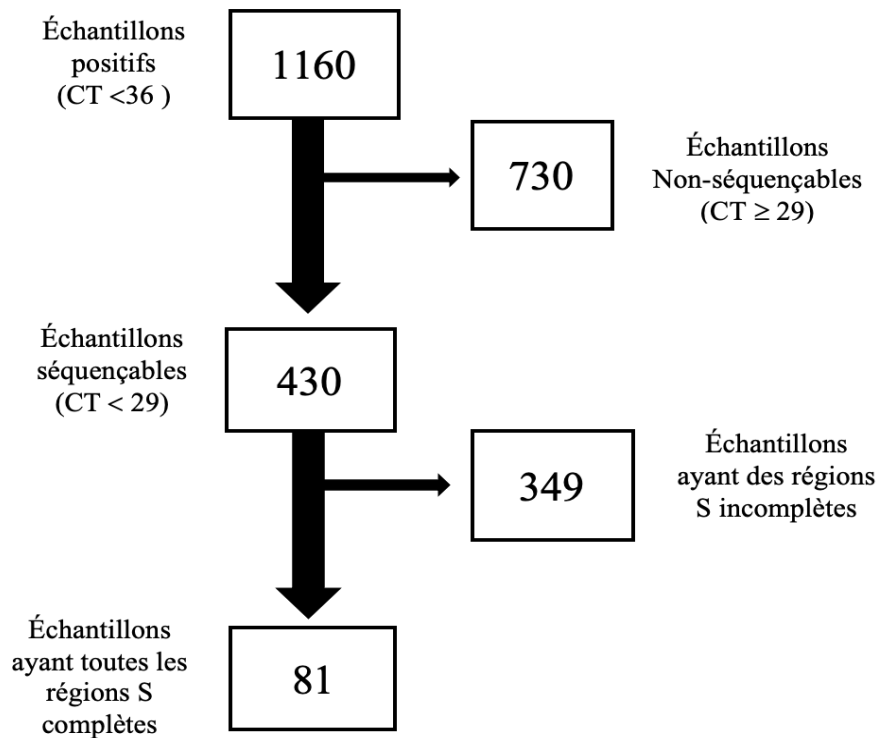


Figure 10 : Diagramme de démarche du choix de nos échantillons

Sur un total de 1160 échantillons testés positifs dans notre période d'étude, 430 échantillons présentaient des valeurs CT strictement inférieures à 29 cycles ($CT < 29$) étaient donc inclus dans notre étude et pouvaient être séquencés. Après le séquençage, seulement 81 échantillons avaient leurs régions S complètes.

5.2. Résultats descriptifs

5.2.1. Répartition des participants en fonction du sexe

Les données socio-démographiques ont été obtenues et nous avons obtenu un diagramme en cercle représentatif. Les femmes sont représentées par la couleur rose et les hommes par le bleu.

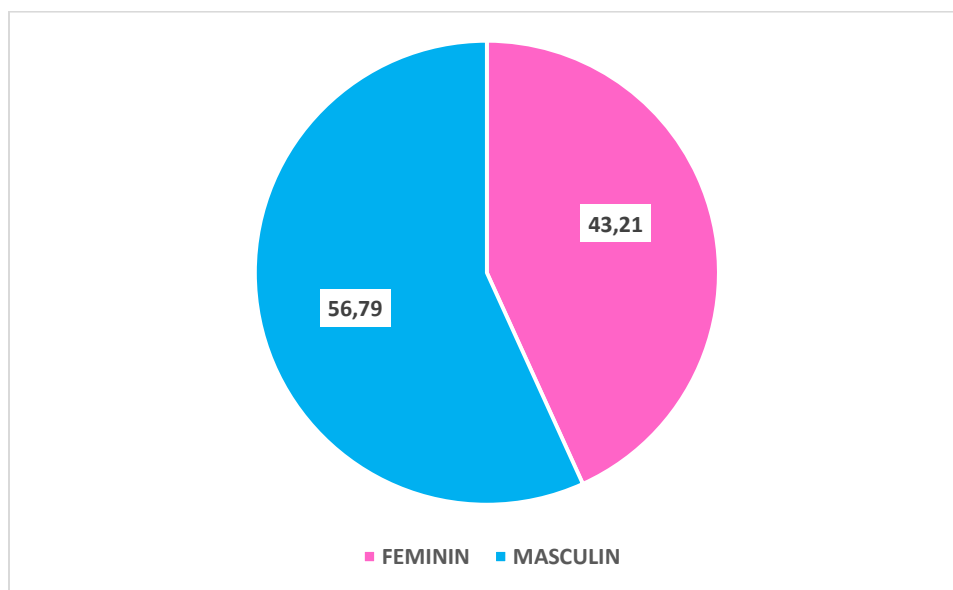


Figure 11 : Diagramme de la répartition des échantillons en fonction du sexe

La répartition en fonction du sexe des participants à l'étude se présentait comme suit : Le sexe masculin était prédominant dans nos échantillons avec environ 56,79 % avec un sex-ratio (sexe masculin sur féminin) de 1,3.

5.2.2. Distribution des participants en fonction de l'âge

Les effectifs et les pourcentages des participants comparés en fonction des différentes tranches d'âges ont été consignés dans un tableau récapitulatif.

Tableau 6 : Tableau représentant les participants en fonction des âges

TRANCHES D'AGE	EFFECTIFS	POURCENTAGE (%)
≤ 20 ans	7	8,64
21 – 40 ans	28	34,57
41 – 60 ans	21	25,93
≥ à 61 ans	9	11,11
Non renseigné	16	19,75
Total	81	100

La tranche majoritaire était celle des 21 – 40 ans (34,57%), suivie directement par celle des 41 – 60 ans (25,93%).

5.2.3. Pyramide des âges de la répartition des participants

Les participants à notre étude ont été repartis en fonction du sexe et de l'âge dans une pyramide des âges comme représenté sur la figure 12.

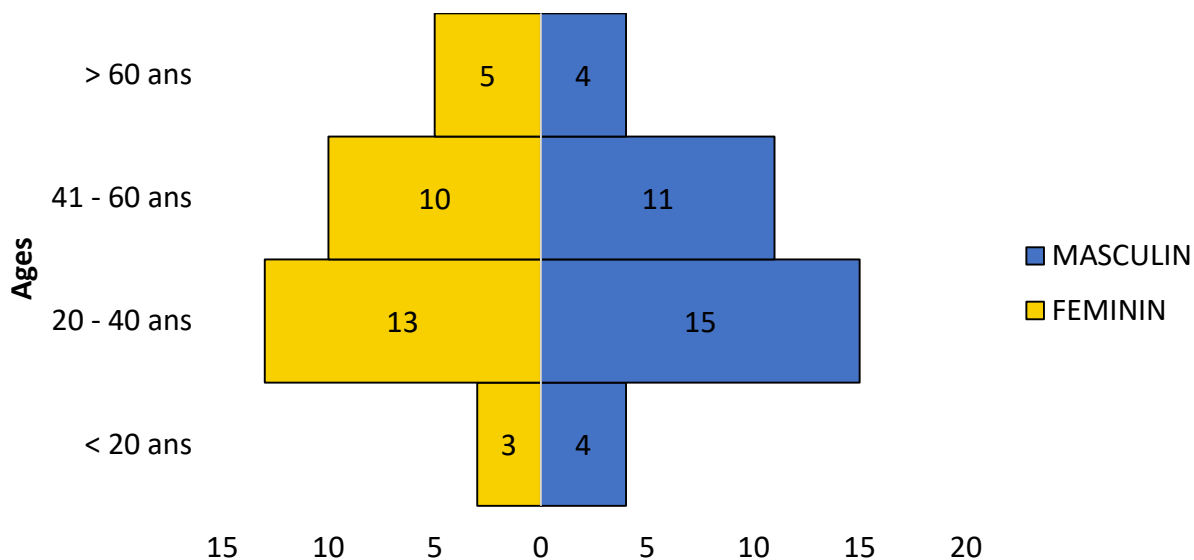


Figure 12: Pyramide de la répartition des participants de l'étude en fonction du sexe et de l'âge

Les hommes dont l'âge varie entre 21 et 40 ans représentaient la majorité de notre population d'étude

L'âge moyen de notre population était de 39,61 ans.

5.2.4. Symptomatologie

La symptomatologie se présentait comme détaillé dans les tableaux 7 et 8 ci-après :

Le tableau 7 présente les effectifs et les pourcentages des cas asymptomatiques, symptomatologies et les non renseignés :

Tableau 7 : Répartition des participants en fonction des symptômes observés

SYMPTOMES	EFFECTIFS	POURCENTAGE (%)
Symptomatiques	20	24,69
Asymptomatiques	31	38,57
Non-Renseignés	30	37,04
Total	81	100

Les cas asymptomatiques étaient majoritaires. Dans ce tableau nous remarquons que les

La symptomatologie était aussi déterminée par les symptômes régulièrement rencontrés (les plus courants dans notre étude). Ces symptômes ont été recensés et consignés dans le tableau 8 comme suit :

Tableau 8 : Tableau des symptômes régulièrement répertoriés

Symptômes	Toux	Fièvre	Asthénie	Céphalées	Myalgie	Dyspnée	Autres	RAS
Effectifs	6	5	1	2	2	1	2	61
Pourcentage (%)	7,41	6,17	1,23	2,47	2,47	1,23	2,47	75,31

(Autres : douleur basithoracique, ulcère gastrique)

Soixante-et-un (61) personnes sur 81 étaient des personnes asymptomatiques, soit 75,31% des cas. Toutefois, la toux sèche et la fièvre étaient les symptômes qui revenaient le plus souvent chez les personnes malades.

5.3. Résultats analytiques

5.3.1. Mutations génomiques observées

Les mutations observées sont regroupées en groupes (clades). Les mutations observées sont rangées en 7 clades : 19B, 20A, 20B, 21A (Delta), 21D (Êta), 21I (Delta), 21J (Delta). Les différents groupes recensés ont été repartis en fonction de leur prévalence dans un diagramme en bâtons comme présenté sur la figure 13 :

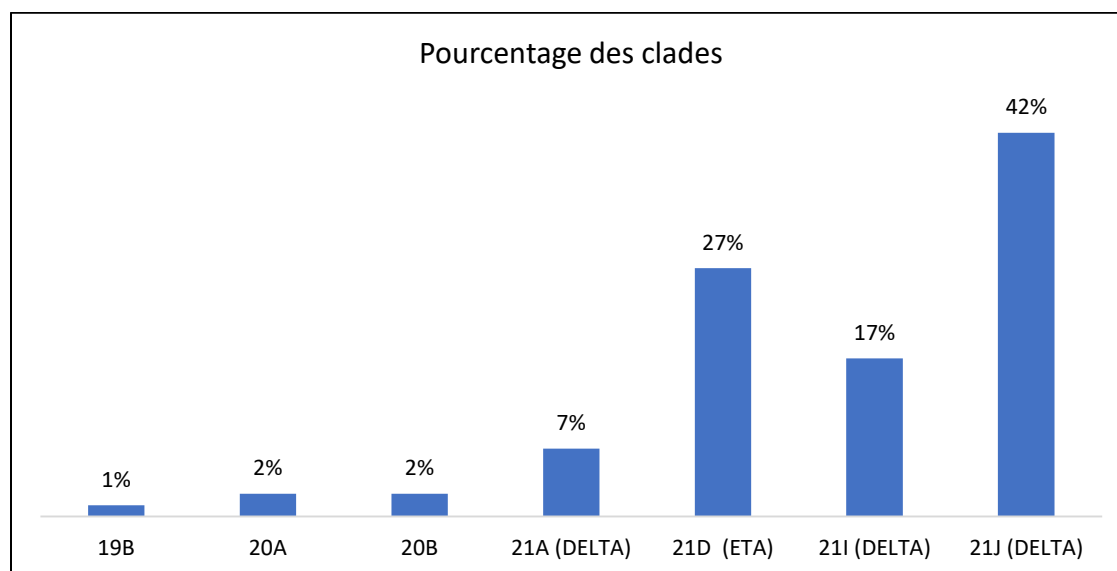


Figure 13 : Prévalence des variants dans notre population d'étude

Le variant Delta (clade 21J) représentait la majorité avec 42%, directement suivi par le clade 21D (Delta) avec 27%.

5.3.2. Distribution des variants en fonction de la période de diagnostic

Le graphe ci-après détaille l'évolution des variants en fonction de la période auxquelles ils ont été diagnostiqués à l'UCRC.

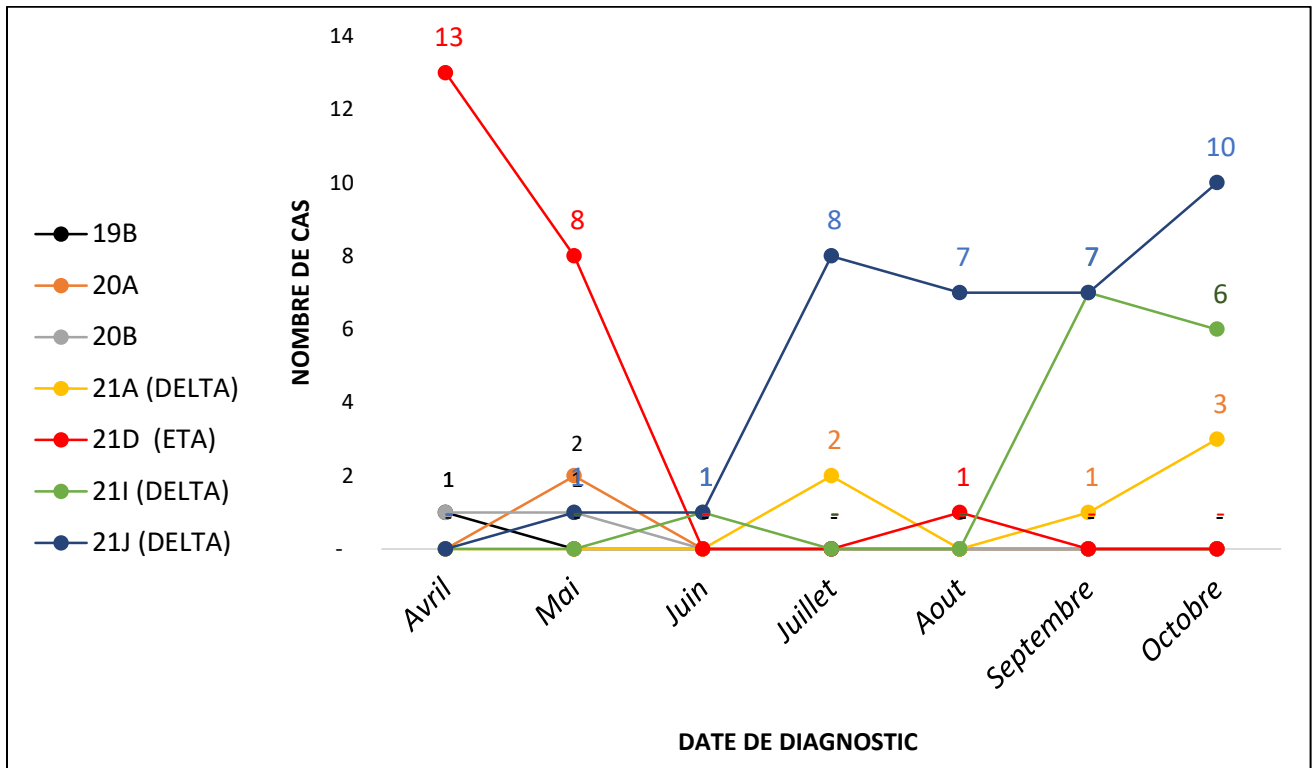


Figure 14: Répartition des clades en fonction des dates de diagnostic

Le clade ou groupe 21J Delta (coloré en bleu) avait le plus grand taux d'infectiosité (grand nombre de personnes infectées)

Le clade 20A était le plus minoritaire directement suivi par le 19A.

5.3.3. Comparaison entre l'évolution de la situation nationale et l'apparition des variants dans notre période d'étude

L'épidémiologie au Mali a été comparée aux flux de variants déterminé par l'équipe de l'UCRC pendant notre période d'étude. Le graphe ci-après compare le nombre de nouveaux cas de coronavirus enregistré au Mali à ceux détectés au sein de l'UCRC pendant notre période d'étude.

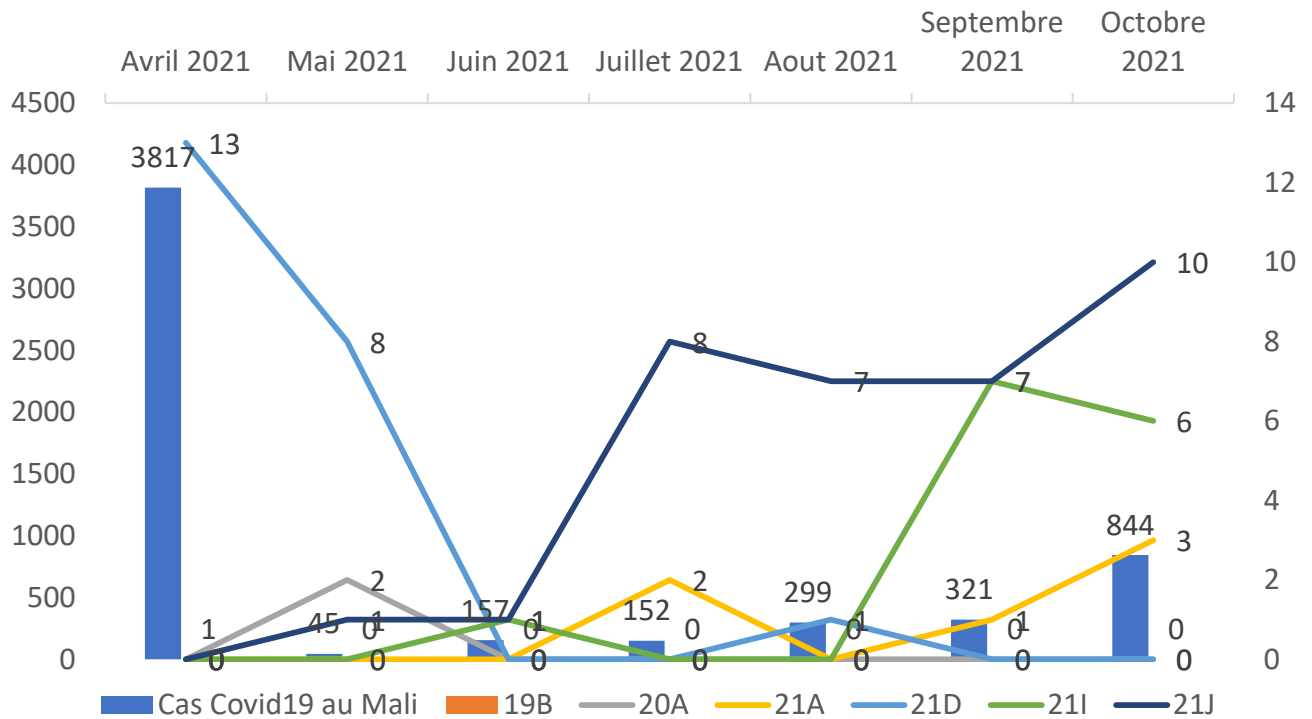


Figure 15 : Comparaison entre les cas enregistrés au Mali et ceux détectés à l'UCRC dans la période d'avril à octobre 2021

Le nombre de cas détectés à Bamako entre avril et octobre 2021, testés au sein de l'UCRC et ceux testés au niveau national étaient proportionnels.

5.3.4. Phylogénie

A partir des séquences déterminées dans nos échantillons, nous avons établi un arbre phylogénétique des variants du SARS-COV-2.

Il montre l'évolution (mutations) du virus du SARS-CoV-2 issue de la pandémie de COVID-19 combinée à ceux de nos échantillons séquencés. Il se présentait comme suit :

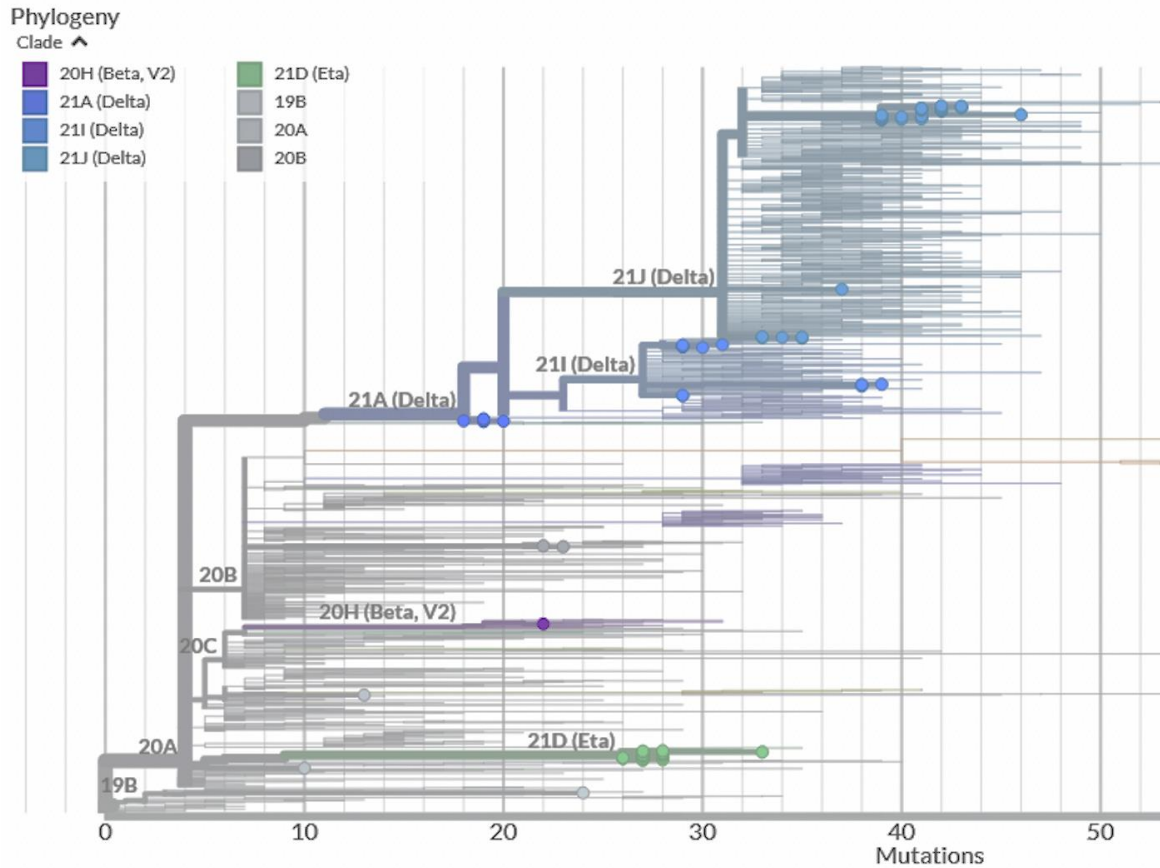


Figure 16 : Arbre phylogénétique représentatif de nos échantillons séquencés

Les variants Delta (21J, 21I) et Èta (21D) étaient les derniers en termes d'apparition phylogénétique.

5.3.5. Cartographie des variants répertoriés

La répartition des variants déterminés lors de notre étude a été projeté sur une carte du district de Bamako sous l'aspect d'une cartographie. La figure 18 détaille cette répartition.

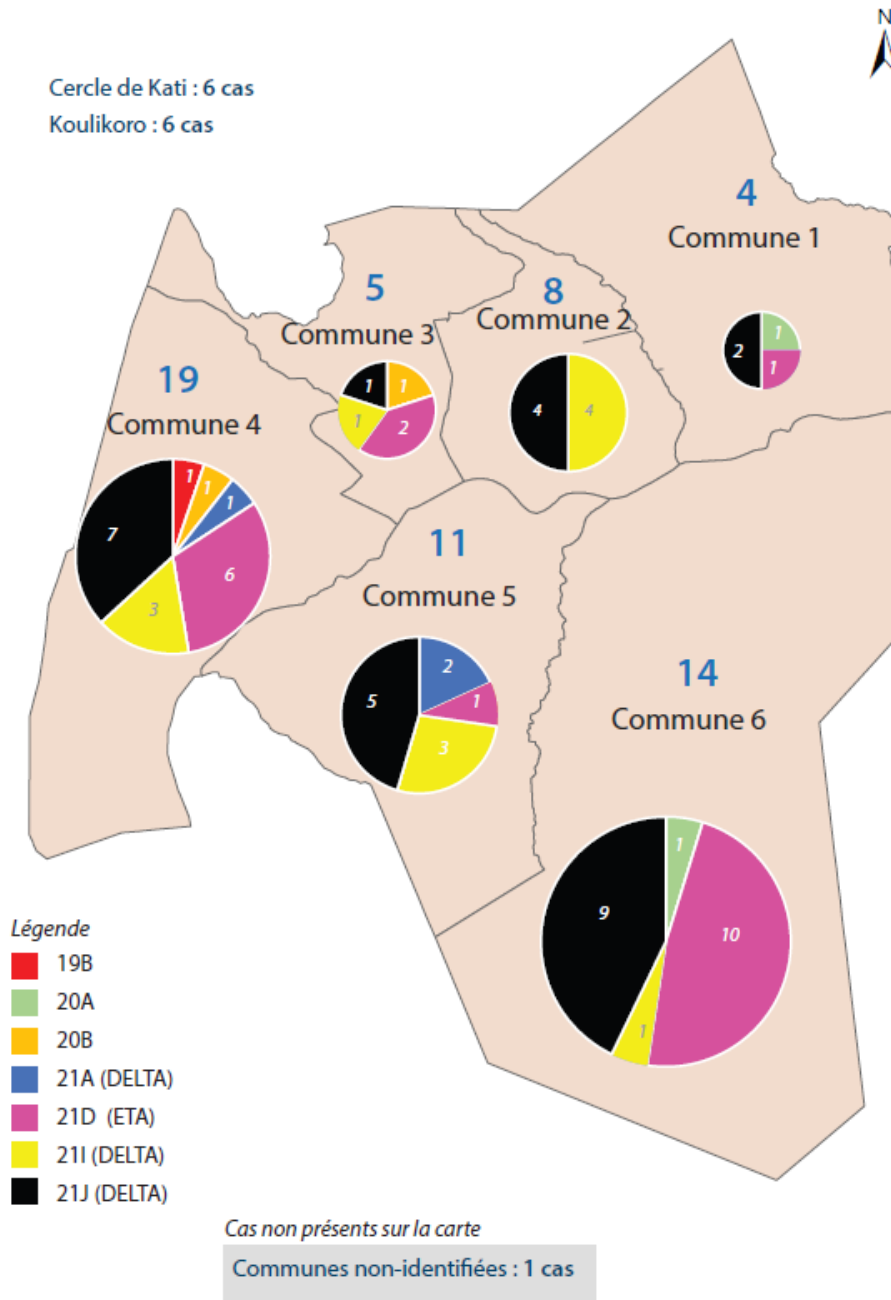


Figure 17 : Cartographie de la répartition des variants du SARS-COV-2 dans les communes du district de Bamako entre avril et octobre 2021

La cartographie de la répartition des variants du SARS-COV-2 dans le district de Bamako a montré une répartition éparse des variants dans le district de Bamako. Les communes 4 et 6 étaient les plus représentées avec respectivement 19 cas et 14 cas soit respectivement 23,45 % et 17,28 %.

Les variants Delta étaient majoritairement présents dans cinq sur les six communes du district de Bamako.

6. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

Notre étude de type transversale et observationnelle avait pour principal but la détermination de la prévalence des variants du SARS-COV-2 observés à Bamako dans la période du 19 avril au 31 octobre 2021. Au total, elle a porté sur 81 échantillons positifs au COVID-19, tous testés au sein du laboratoire de Biologie moléculaire de l'UCRC à Bamako, au Mali.

6.1. Analyses descriptives

La détermination des variants SARS-COV-2 a essentiellement portée sur les échantillons présentant des charges virales élevées. Une charge virale élevée correspondant à une valeur CT faible, nous n'avons pris en compte que des échantillons présentant ce critère. Un séquençage génomique est dit effectif lorsque toute la région S (longue d'environ 1250 acides aminés) est visible. Les échantillons ne présentant pas de région S complète n'ont pas été pris en compte. Notre échantillonnage a certes porté sur une partie infirme (environ 3,91%) de la totalité des échantillons nationaux, il n'est donc pas totalement représentatif de l'échantillon national mais peuvent servir de repère pour comprendre la prévalence des variants au niveau national.

Les données démographiques ont montré que le sex-ratio était de 1,3 en faveur du sexe masculin (Fig. 11) confirmant la prédominance du sexe masculin positif au COVID-19 autant dans nos échantillons séquencés qu'au niveau national. Cette prévalence rencontre des similitudes avec certaines études et des différences avec d'autres. En effet, dans certaines études la prédominance du sexe féminin devant le masculin a été démontrée [45], tandis qu'elle est quasiment similaire à la nôtre dans d'autres, notamment celle évoquée en 2021 par des chercheurs de l'Institut Nationale d'Étude Démographique (INED) en France dans un article paru le 15 mars 2022, la maladie aurait eu une mortalité un peu plus importante chez les hommes que chez les femmes [46]. Ces auteurs expliquent ce résultat par le vieillissement de la population; à l'espérance de vie des hommes qui aurait reculée en 2020 par rapport à celle des femmes, mais aussi et surtout selon Gilles Pison de l'INED, ce serait dû aux comportements (prises de risques élevées) et activités (physiquement épuisantes) des hommes [47]. Dans notre cas, les zones dans lesquelles ont été enregistrées les taux élevés d'infection chez les hommes sont les zones commerciales

(fréquentées majoritairement par des populations de sexe masculin) ou encore, des zones où logent de nombreux fonctionnaires internationaux qui sont majoritairement masculins (Fig. 17). Ces zones sont essentiellement les communes 4 et 6 du district de Bamako. Ce grand trafic pourrait être à l'origine de fortes infectiosités chez les individus de sexe masculin dans ces zones, comme le mentionnaient G, Pison et F. Meslé [47]. En effet, pour ces auteurs le risque pour un homme de mourir de la COVID-19 est 2,5 fois plus élevé chez l'homme que la femme parce qu'ils exercent des métiers ne permettant pas toujours le télétravail et étaient beaucoup plus exposés à l'infection comme ce fut le cas au Mali.

Notons aussi que dans nos analyses, les proportions d'enfants infectés étaient relativement faibles ; ils présentaient très peu de symptômes de la maladie et la virémie dans cette tranche d'âge s'est avérée basse par rapport aux adultes. Selon Dr. Ariane Zaloszyk et Michel Tsimaratos [48], la COVID-19 ne semble pas avoir eu d'impact sur les enfants et affichait un faible taux d'hospitalisation et de mortalité virale pédiatrique. On peut de ce fait, les classer parmi les porteurs sains (asymptomatiques). En outre, F. Tangy [49] soutient que le porteur sain ne présente pas de symptômes mais reste contagieux. Il peuvent donc transmettre la maladie à d'autres personnes.

Ceci est en conformité avec nos résultats qui se présentent sous forme de taux d'infections et de cas asymptomatiques élevés.

6.2. Données analytiques

Notre étude a mis en évidence l'une des raisons de la virulence du SARS-COV-2 : le pourcentage très élevé de cas asymptomatiques (75,31%). En effet, le fait que de nombreuses personnes portent le virus sans présenter de symptômes apparents de la maladie (porteurs asymptomatiques ou porteurs sains) constitue une large voie de contamination. Ce résultat est confirmé dans la littérature scientifique par de nombreux articles et publications. Le conseil scientifique de l'OMS confirme ainsi dans une note du 14 décembre 2020 que 40 à 50% des nouvelles contaminations sont induites par des porteurs asymptomatiques. Selon cette note, une personne positive au COVID-19 peut transmettre le virus à 3 personnes en moyenne. [49] Quiyue Ma and al. dans une revue et une méta-analyse de 95 études uniques estiment à 40,5 le

pourcentage de cas asymptomatiques parmi la population avec des tests confirmés positifs au COVID-19 [50][51].

D'autre part, le symptôme qui revenait le plus était la toux. Ceci s'expliquerait par le fait que dans la physiopathologie du SARS-COV-2, les débris issues de la phagocytose et de la lyse des cellules infectées par le virus, induisent une toux réflexe, signe d'une obstruction des voies respiratoires [20]. Le graphe de la comparaison entre les nouveaux cas de COVID-19 recensés au Mali par d'autres laboratoires et ceux décelés par l'UCRC entre avril et octobre 2021 (Fig. 16) montre une relative synchronologie et une proportionnalité entre les tendances des cas recensés au niveau national et ceux diagnostiqués à l'UCRC. Il semblerait donc qu'à chaque apparition de nouveaux variants, on observait un nouvel impact sur l'épidémiologie nationale. On peut de ce fait émettre l'hypothèse que la présence d'un variant aurait une forte incidence sur la situation épidémiologique. Les mutations génomiques observées sont essentiellement de 7 clades (groupes) différents. On distingue le clade : 19B, 20A, 20B, 21A (Éta), 21D (Delta), 21I (Delta) et 21J (Delta). La base de données de Nextstrain divise les souches de SARS-COV-2 en plusieurs clades. La souche 19B est la souche de référence originale [52]. Notre arbre phylogénique (Fig. 17) détaille les liens de parenté entre les différents clades observés depuis la souche originale jusqu'aux derniers groupes détectés. Les clades 19B, 20A et 20B sont les moins représentés. Tandis que les clades Delta : 21D (Delta), 21I (Delta) et surtout 21J (Delta) ont des pouvoirs infectieux beaucoup plus élevés. On estime à 66,2% la moyenne des pourcentages du variant 21J (Delta) dans certaines études [53]. En effet, les clades plus récents proviennent tous du 19B (souche originale). L'apparition de nouveaux variants implique généralement le recul notable des « souches historiques » [54]. Selon F. Blanquart [54], l'explication serait que les nouvelles souches de variants présenterait des « avantages sélectifs » et des taux de réplifications supérieurs ; ce qui induit que la probabilité pour cette souche d'être de plus en plus majoritaire est extrêmement élevée.

6.3. Limites de l'étude

Au terme de cette étude, il convient d'énumérer les limites observées afin d'améliorer la qualité des prochaines études dans ce domaine. Bien que nos objectifs aient été atteints, quelques limites ont été recensées au cours de cette étude.

En effet, la présente étude ne prend pas en compte les données sur le suivi des personnes testées ainsi que les comorbidités. Ces informations sont pourtant toutes aussi importantes pour compléter les bases de données.

Notons aussi, la synchronisation des bases de données des patients testés positifs au COVID-19 dans les sites de prélèvements (hôpitaux, centres de santé de référence ...) et celles de l'UCRC n'est pas effective. Le mauvais remplissage des champs lors de l'enregistrement de nouveaux patients ou personnes désirant faire le test COVID-19 rend incomplètes les informations sur certains patients. Ceci rend difficile aussi bien le suivi des patients testés positifs au COVID-19 que l'actualisation des données.

7. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

7.1. Conclusion

Les résultats des tests PCR et ceux du séquençage ont renforcé l'hypothèse de la prédominance du sexe masculin dans l'infection au COVID-19 (56,79%) ainsi que celui du variant Delta (42%) qui a majoritairement circulé dans les communes 4 et 6 du district de Bamako.

Notre étude nous a permis de confirmer la présence de variants du SARS-COV-2 à Bamako et d'établir une corrélation entre leur présence et l'épidémiologie de la maladie au niveau national.

7.2. Perspectives

Il convient tout de même pour nous de proposer quelques recommandations et perspectives en vue d'améliorer les conditions des prochaines études et d'émettre des idées pour celles-ci.

Comme recommandations, nous proposons d'une part que les documents (fiches, registres et bases de données) pour l'enregistrement des informations sur les personnes testées soient mieux renseignés afin d'éviter des soucis d'analyses et de gestion des données à l'avenir. Pour cela une base de données informatisée à l'instar de Redcap pourrait être utilisée à la place des fiches en papiers physiques et serait remplie dès les premières rencontres entre les cliniciens et les personnes testées. Ainsi, les mises à jour des données sur la surveillance de leur état de santé (personnes testées, malades ou pas) se feront plus simplement et efficacement. D'autre part, les informations sur l'évolution de l'état de santé pourraient fournir de nouvelles informations sur l'impact qu'ont ces variants sur la prise en charge thérapeutique de la COVID-19. Des informations qui s'avèreront utiles pour décider de la nécessité ou pas, de modifier ou améliorer les traitements et vaccins en cours d'utilisation ou mieux encore d'adapter ou attribuer à chaque variant un traitement adéquat.

7.3. Recommandations

Au terme de notre étude et au vu de nos résultats, nous formulons les recommandations qui sont les suivantes :

- **Aux populations,**

- Respecter les mesures barrières recommandées par les acteurs de santé, afin d'éviter de nouvelles propagations de la maladie au sein de nos communautés car la maladie à COVID-19 est une réalité et contrairement à la croyance populaire, les populations africaines sont autant concernées par cette pathologie que les caucasiens (populations blanches).

- **Au ministère de la santé,**

- Utiliser l'information géographique et mettre à jour régulièrement la base de données des cas de COVID-19 pour lutter contre la propagation de la maladie. Ces actions serviraient au suivi des populations et à la maîtrise d'éventuelles crises sanitaires (épidémies, pandémies) ;
- Intensifier les campagnes d'information pour les populations sur les moyens de lutte et de prévention de la maladie à COVID-19 et ;
- Continuer la prise en charge vaccinale des populations en vue de ralentir la propagation de la maladie;
- Soutenir les programmes de recherches en vue de contribuer à lutter efficacement contre la survenue de pathogènes à haute virulence.

- **Au personnel de santé (chercheurs),**

- Continuer la recherche sur le SARS-COV-2 et ses variants en faisant par exemple des études rétrospectives en vue d'accroître nos connaissances sur cette pathologie ;
- Rester vigilants et continuer d'appliquer les mesures barrières car la diminution constatée récemment des cas positifs de COVID-19 n'exclut pas la possibilité d'apparition de nouveaux variants encore plus virulents pour l'espèce humaine (et / ou) animale.

- **A l'UCRC,**

- Améliorer le plateau technique ;
- Élargir les zones d'étude à la sous-région ouest-africaine ou à l'Afrique en général afin d'avoir des résultats beaucoup plus fournis ;

- Poursuivre les études sur le séquençage génomique dans l'optique de réussir à séquencer des régions plus grandes.

- **À l'endroit des partenaires de l'UCRC,**
 - Perpétuer les financements pour la recherche et la formation des chercheurs, étudiants et personnels de santé en vue d'améliorer nos connaissances sur ces pathogènes (leur virulence, leur mode de propagation, les vaccins, etc.) ;
 - Élargir leurs actions à d'autres couches de la population (notamment les personnes d'autres domaines professionnels) sous forme d'ateliers de formations afin d'imprégner le maximum de personnes.

8. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Julie M. Coronavirus dans le monde samedi 2 avril 2022 : nouveaux cas et morts en 24h. Coronavirus Actual 2022 2022.
- [2] WHO O. Allocution liminaire du Directeur général de l'OMS lors du point presse sur la COVID-19 - 11 mars 2020. WHO 2020.
- [3] WHO-2019-nCoV-clinical doc-2020.5 n.d.
- [4] Asselta R, Paraboschi EM, Mantovani A, Duga S. ACE2 and TMPRSS2 variants and expression as candidates to sex and country differences in COVID-19 severity in Italy. *Aging* 2020;12:10087–98.
- [5] SALAME N. Le Sars-CoV-2 et l'évolution clonale — Site des ressources d'ACCES pour enseigner les Sciences de la Vie et de la Terre n.d. INSTITUT FRANCAIS DE L'EDUCATION.
- [6] Aleem A, Akbar Samad AB, Slenker AK. Emerging Variants of SARS-CoV-2 And Novel Therapeutics Against Coronavirus (COVID-19). StatPearls, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
- [7] Ren S-Y, Wang W-B, Gao R-D, Zhou A-M. Omicron variant (B.1.1.529) of SARS-CoV-2: Mutation, infectivity, transmission, and vaccine resistance. *World J Clin Cases* 2022;10:1–11. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v10.i1.1>.
- [8] Dejnirattisai W, Huo J, Zhou D, Zahradník J, Supasa P, Liu C, et al. Omicron-B.1.1.529 leads to widespread escape from neutralizing antibody responses. *BioRxiv* 2021:2021.12.03.471045.
- [9] WHO O. Weekly epidemiological update on COVID-19 - 28 December 2021. who2021 2021.
- [10] WHO O. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. WHO Coronavirus COVID-19 Dashboard 2020.
- [11] French News N. (COVID-19) Le nombre de cas en Afrique dépasse les 10,56 millions (CDC Afrique)_French.news.cn. COVID-19 CDC Afr 2022.
- [12] OW D. COVID-19 Data Explorer. Our World Data 2022.
- [13] VIDAL. COVID19 : le point sur la question des réinfections. VIDAL 2022. Section: Santé.
- [14] June A. The woman who discovered the first coronavirus 2020.
- [15] Vabret A, Dina J, Brison E, Brouard J, Freymuth F. Coronavirus humains (HCoV). *Pathol Biol (Paris)* 2009;57:149–60.
- [16] Boni MF, Lemey P, Jiang X, Lam TT-Y, Perry BW, Castoe TA, et al. Evolutionary origins of the SARS-CoV-2 sarbecovirus lineage responsible for the COVID-19 pandemic. *Nat Microbiol* 2020;5:1408–17.
- [17] Poudel U, Subedi D, Pantha S, Dhakal S. Animal coronaviruses and coronavirus disease 2019: Lesson for One Health approach. *Open Vet J* 2020;10.
- [18] Kern J. Le SARS-CoV-2 serait un mélange de coronavirus de pangolin et de chauve-souris. *Futura* n.d. www.futura-sciences.com.
- [19] SARS-COV-2. Inst Pasteur 2015. www.pasteur.fr.
- [20] Bonny V, Maillard A, Mousseaux C, Plaçais L, Richier Q. COVID-19 : physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. *Rev Med Interne* 2020;41:375–89.
- [21] Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Song Z-G, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 2020;579:265–9.
- [22] Lefeuvre C, Przyrowski É, Apaire-Marchais V. Aspects virologiques et diagnostic

- du coronavirus Sars-CoV-2. *Actual Pharm* 2020;59:18–23.
<https://doi.org/10.1016/j.actpha.2020.08.005>.
- [23] Kim D, Lee J-Y, Yang J-S, Kim JW, Kim VN, Chang H. The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell* 2020;181:914-921.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011>.
- [24] WHO O. Nouveau coronavirus – Chine. *Nouv Coronavirus – Chine* 2020.
- [25] Comprendre le cycle du virus permet de comprendre pourquoi il est si dangereux et les recherches de médicaments pour le stopper | *Jump-To-Science*. *Jump--Sci* 2021.
- [26] Mollica V, Rizzo A, Massari F. The pivotal role of TMPRSS2 in coronavirus disease 2019 and prostate cancer. *Future Oncol* 2019;10.2217/fon-2020–0571.
- [27] Suivi des variants du SARS-CoV-2. www.who.int 2022.
- [28] Updated Nextstrain SARS-CoV-2 clade naming strategy. nextstrain.org 2022.
<https://nextstrain.org/blog/2021-01-06-updated-SARS-CoV-2-clade-naming> (accessed May 26, 2022).
- [29] egmosadmin. Les maladies non infectieuses du poumon après une allogreffe de cellules souches de moelle osseuse | *Espace Inf Dédié À Greffe Moelle Osseuse* 2021.
- [30] Roussy G. Soutenez les projets de recherche Covid-19 de Gustave Roussy. *Gustave Roussy* 2019.
- [31] Ritchie H, Mathieu E, Rodés-Guirao L, Appel C, Giattino C, Ortiz-Ospina E, et al. Coronavirus Pandemic (COVID-19). *Our World Data* 2020.
- [32] Campagnano S, Angelini F, Fonsi GB, Novelli S, Drudi FM. Diagnostic imaging in COVID-19 pneumonia: a literature review. *J Ultrasound* 2021;24:383–95.
<https://doi.org/10.1007/s40477-021-00559-x>.
- [33] Fink SL, Cookson BT. Apoptosis, Pyroptosis, and Necrosis: Mechanistic Description of Dead and Dying Eukaryotic Cells. *Infect Immun* 2005;73:1907–16.
<https://doi.org/10.1128/IAI.73.4.1907-1916.2005>.
- [34] Akiko I, Padmini SP. Innate immunity to influenza virus infection | *Nature Reviews Immunology*. www.nature.com article. *Nature*.
- [35] Jamai Amir I, Lebar Z, yahyaoui G, Mahmoud M. Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio* 2020;31:15–20.
- [36] Desvaux É, Faucher J-F. Covid-19 : aspects cliniques et principaux éléments de prise en charge. *Rev Francoph Lab* 2020;2020:40–7.
- [37] Cas asymptomatiques, pré-symptomatiques et signes et symptômes.pdf n.d.
- [38] WHO OMDLS. ACT-Accelerator: An economic investment case & financing requirements n.d. WHO.
- [39] Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Napoli RD. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). *StatPearls Publishing*; 2022.
- [40] sciences JSP par les, Humaines ER, Découvertes JPAVLN, Intéressants DSLPIADLP. COVID-19 : Deux virus du Mali séquencés par des chercheurs du MRTC-Parasito | *JSTM* 2020.
- [41] oms who. Les différents types de vaccins contre la COVID-19. *News-Room* 2022.
- [42] ONU I. Covid-19 : l’OMS surveille plusieurs lignées descendantes d’Omicron. *ONU Info* 2022.
- [43] Meenakshi D, OKA S, Jones A. L’Afrique doit multiplier par six le taux de vaccination contre la COVID-19. *OMS Bur Régional Pour Afr* n.d.
- [44] Diagne F, Maiga I. Arrivée des vaccins anti-COVID-19 au Mali : la Facilité COVAX devient une réalité 2021.
- [45] Sebastião CS, Neto Z, Martinez P, Jandondo D, Antonio J, Galangue M, et al.

Sociodemographic characteristics and risk factors related to SARS-CoV-2 infection in Luanda, Angola. PLOS ONE 2021;16:e0249249.

[46] BERROD N. Covid-19: Infection majoritairement masculine. Parisien 2022.

[47] Meslé F, Pison G. Les hommes meurent plus du Covid-19 que les femmes : de combien ? et pourquoi ? The Conversation 2022.

[48] Zalozyc A, Tsimaratos M. La place des enfants dans la pandémie et le rôle de la COVID-19 dans leur vie. Nephrol Ther 2021;17:214–7.

[49] Thiébaux A. Porteur sain Covid (asymptomatique) : définition, test, isolement. J Santé Femmes 2021.

[50] KERN J. 40 % des cas de Covid-19 sont asymptomatiques. Futura Mag 2022.

[51] Ma Q, Liu J, Liu Q, Kang L, Liu R, Jing W, et al. Global Percentage of Asymptomatic SARS-CoV-2 Infections Among the Tested Population and Individuals With Confirmed COVID-19 Diagnosis: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Netw Open 2021;4:e2137257.

[52] ZOPPI L, COVENEY S. Viral Clades of SARS-CoV-2. News-Medicalnet 2020.

[53] Rathinasamy M, Kandhasamy S. An exploratory study on the propagation of SARS-CoV-2 variants: Omicron is the most predominant variant. J Med Virol 2022;94:2414–21. <https://doi.org/10.1002/jmv.27634>.

[54] Deszpot T. La souche “historique” du Covid-19 a-t-elle totalement disparu ? 2021.

9. ANNEXES

9.1. Annexe 1 : Séquences des huit couples de primers utilisées pour le séquençage

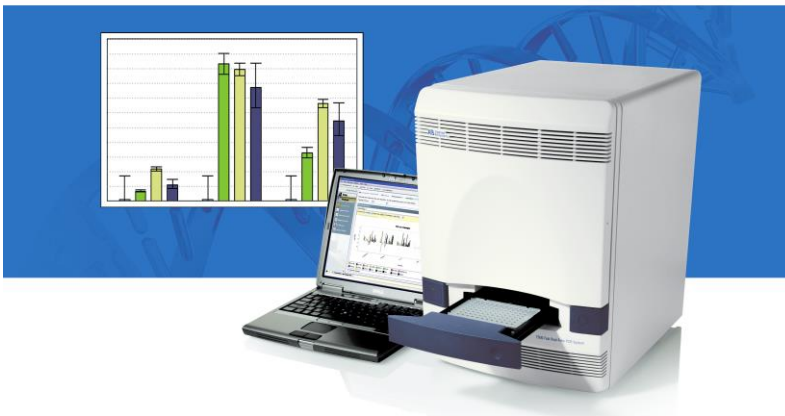
Les primers Forward (F) :

- COVID-S-F1 5'-GGG GTA CTG CTG TTA TGT CTT T-3'
- COVID-S-F2 5'-CGA AGA CCC AGT CCC TAC TTA T-3'
- COVID-S-F3 5'-GAC TCC TGG TGA TTC TTC TTC A-3'
- COVID-S-F4 5'-CTC CAG GGC AAA CTG GAA A-3'
- COVID-S-F5 5'-GTT CTT TTG GTG GTG TCA GTG T-3'
- COVID-S-F6 5'-GTT GCA ATA TGG CAG TTT TTG T-3'
- COVID-S-F7
- COVID-S-F8 5'-CCT TTG CAA CCT GAA TTA GAC TC-3'

Les Primers Reverse (R):

- COVID-S-R1 5'-GGT CCA TAA GAA AAG GCT GAG A-3'
- COVID-S-R2 5'-GAG GGT CAA GTG CAC AGT CTA-3'
- COVID-S-R3 5'-CGC AGC CTG TAA AAT CAT CT-3'
- COVID-S-R4 5'-CAC GCC AAG TAG GAG TAA GTT G-3'
- COVID-S-R5 5'-CTT CTT GGG TGT TTT TGT CTT GT-3'
- COVID-S-R6 5'-GCA CTT CAG CCT CAA CTT TGT-3'
- COVID-S-R7
- COVID-S-R8 5'-GAA AGG GAG TGA GGC TTG TAT-3'

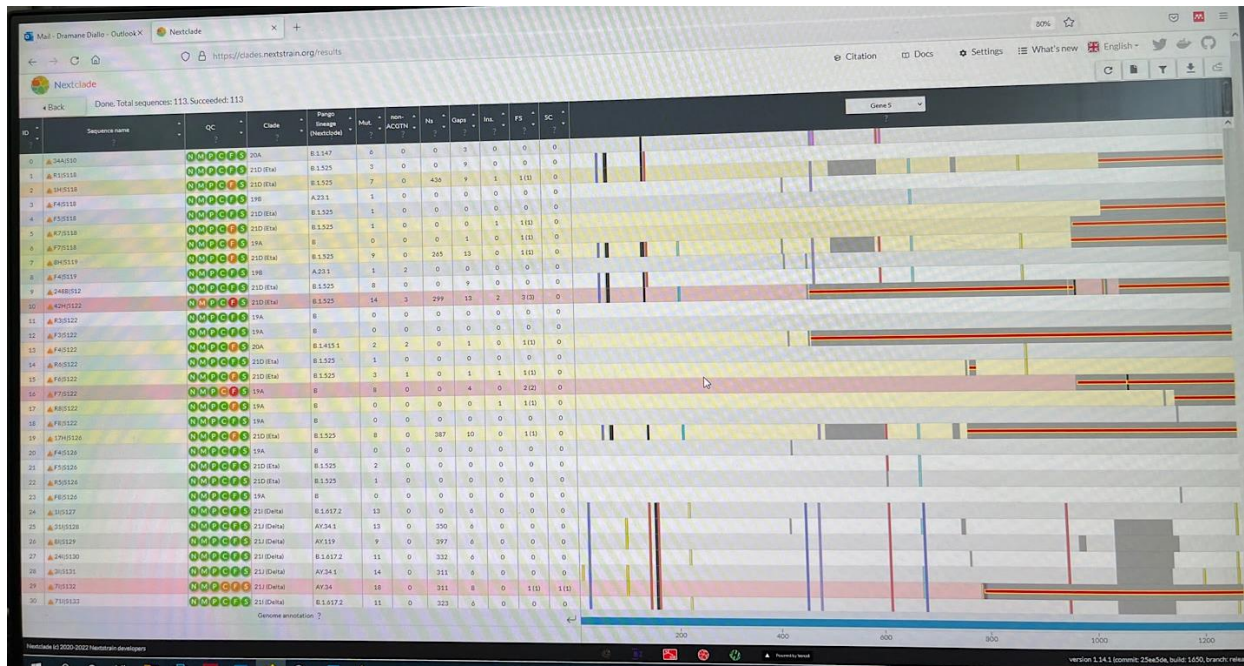
9.2. Annexe 2 : Applied Biosystems 7500 Fast



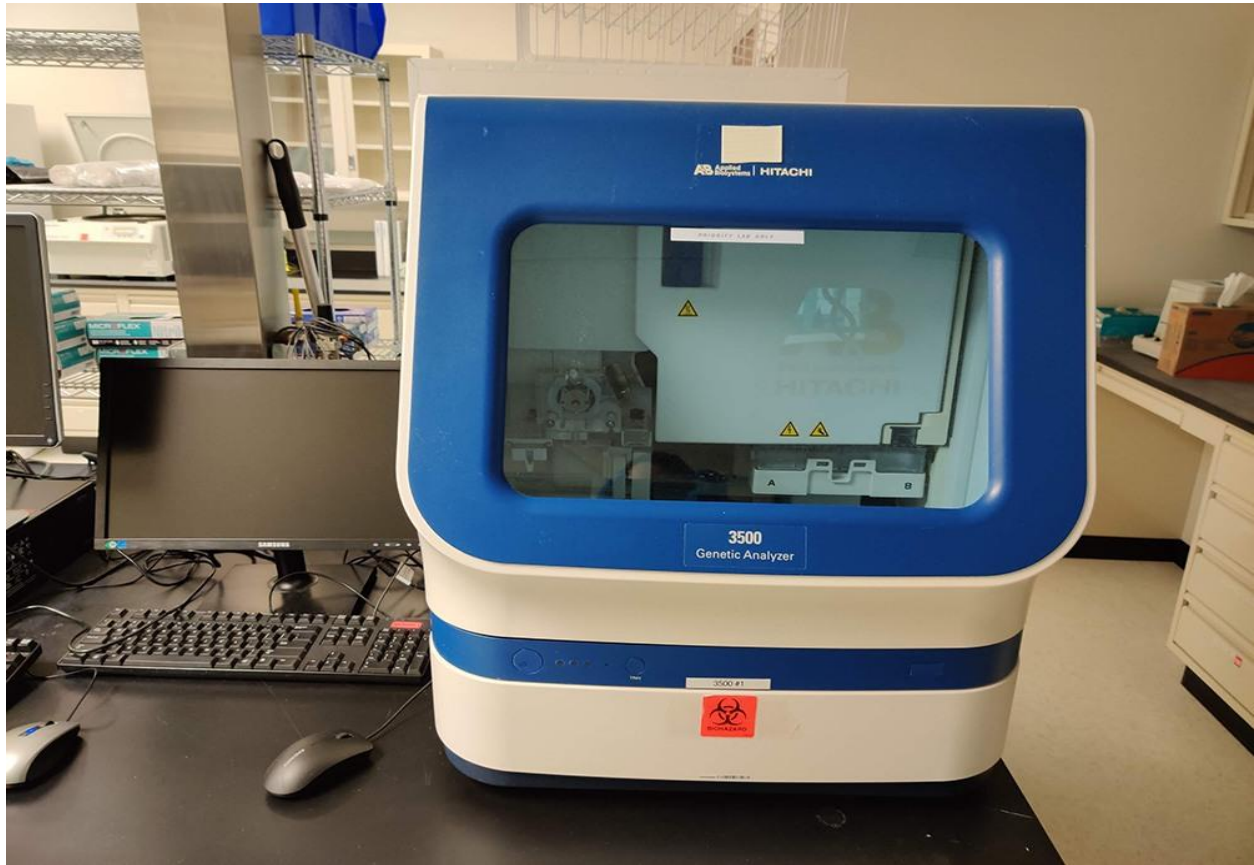
9.3. Annexe 3 : Diagramme de Gantt

Activités	Mars 2021	Avril 2021	...	Sept 2021	Oct. 2021	Nov. 2021	Déc. 2021	Jan. 2022	Fév. 2022	Mars 2022	Avril 2022	Mai 2022
Élaboration du protocole												
Collecte des données												
Analyse des données												
Corrections												
Soutenance												

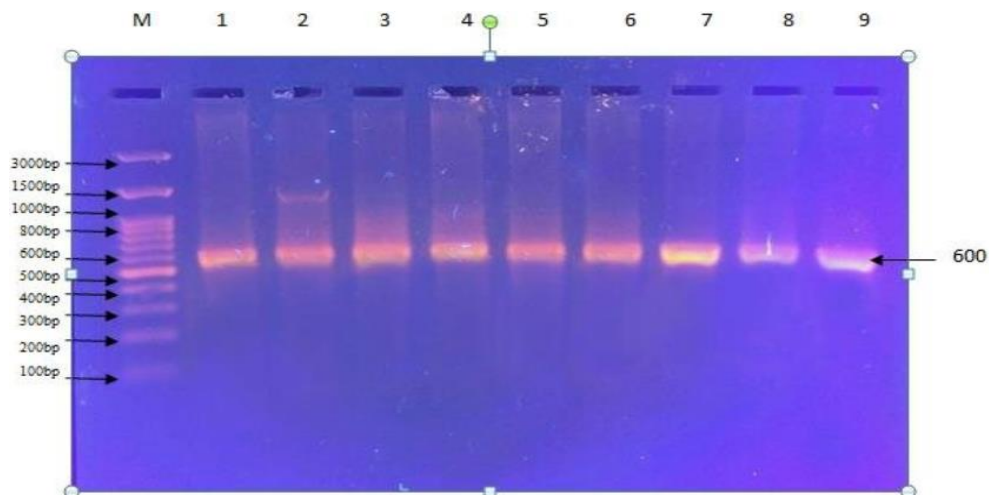
9.4. Annexe 4 : Base de données Nextstrain (Nextclade)



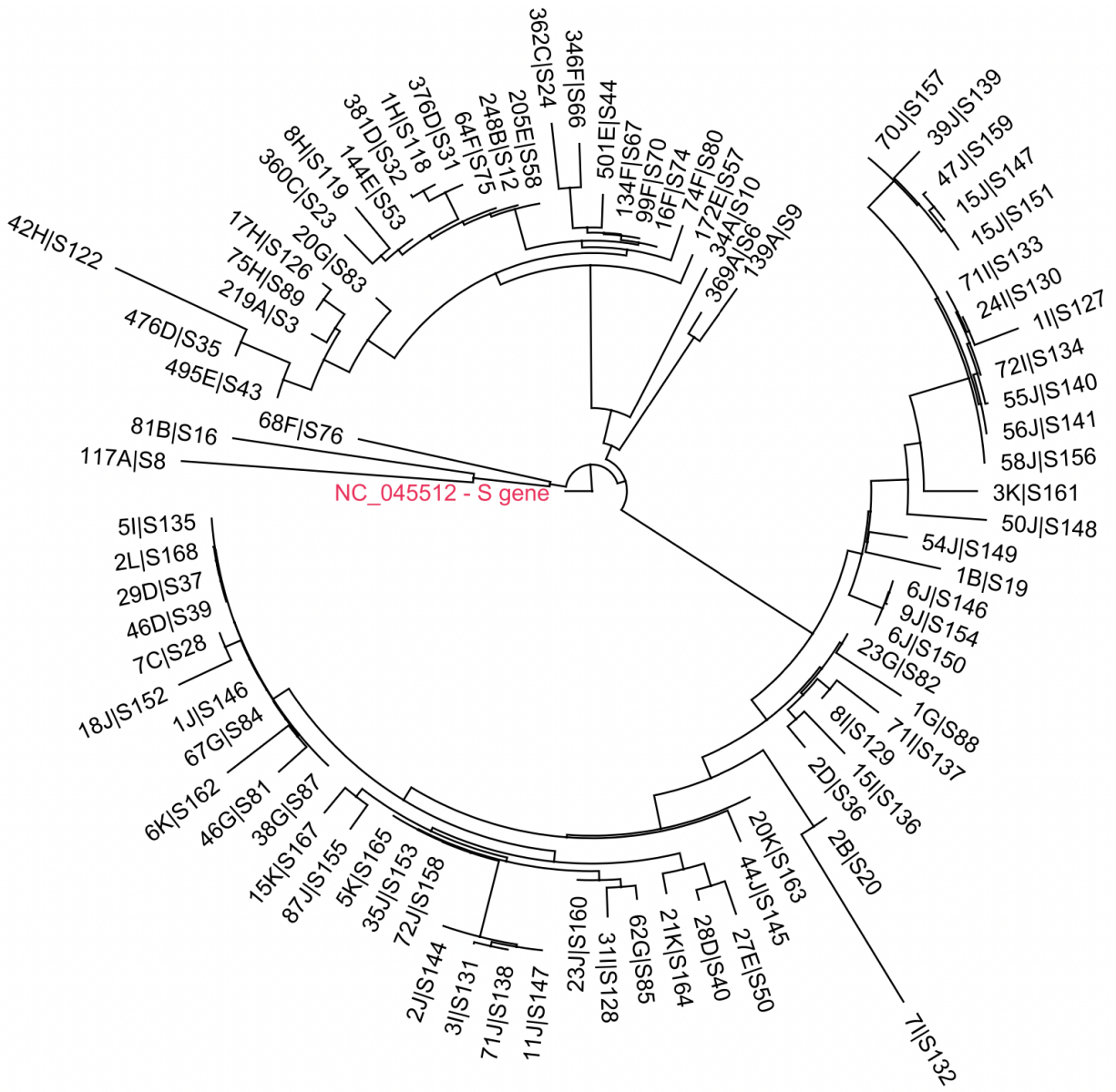
9.5. Annexe 5 : AB 3500 Genetic Analyser



9.6. Annexe 6 : Électrophorèse sur gel d'agarose 1% (Tampon TAE)



9.7. Annexe 7 : Arbre phylogénétique de nos échantillons séquencés (forme radiale)



9.8. Annexe 8 : Vaccinology Certificate of completion



9.9. Annexe 9 : Fiche Signalétique

(Version française)

NOM et PRENOM: MAIGA Oumou

EMAIL: oumou.ousmane.maiga@gmail.com

NATIONALITÉ : Ivoirienne

ADRESSE : Abidjan, Cote d'Ivoire

TITRE DE LA THESE : Prévalence des variants du SARS-COV-2 chez les personnes positives au COVID-19 à Bamako, Mali.

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2020-2021

LIEU DE DEPOT : Bibliothèque de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie de Bamako, Mali

SECTEUR D'INTERET : Biologie moléculaire / Virologie

RESUMÉ : Courant décembre 2019, le monde a été frappé par une pandémie sans précédent. À l'origine de celle-ci, un virus de la famille des Coronaviridae; le SARS-COV-2, responsable d'une nouvelle pathologie affectant le système respiratoire humain : la maladie à Coronavirus encore appelée COVID-19. La propagation fulgurante de la maladie à l'échelle mondiale a provoqué une grosse crise sanitaire et économique internationale. De nombreuses études sont en cours en vue d'éradiquer cette maladie. Le séquençage génomique du SARS-COV-2 a révélé de nombreuses mutations au sein de son génome, notamment au niveau de sa glycoprotéine de surface : protéine S ou SPIKE (Pic).

La présente étude consistait à déterminer la prévalence des variants du SARS-COV-2 chez les personnes positives au COVID-19 à Bamako au Mali. Le test RT-PCR a été utilisé pour l'amplification de l'ARN viral avant son séquençage. En somme, le sexe masculin était beaucoup plus enclin à l'infection avec 56,79% des cas. Le variant 21J Delta avec 42% de cas détectés, était le plus répandu au Mali entre avril et octobre 2021. Les communes 4 , 5 et 6 étaient les zones du district de Bamako où l'infection (et particulièrement le variant Delta) a le plus circulé.

MOTS-CLÉS : SARS-COV-2, COVID-19, Glycoprotéine Spike, Séquençage génomique, Variants, Bamako.

(English version)

NAMES: Oumou MAIGA

EMAIL: oumou.ousmane.maiga@gmail.com,

ADDRESS : Abidjan, Cote d'Ivoire

THESIS TITLE : Prevalence of SARS-COV-2 variants in COVID-19 positive patients in Bamako, Mali.

ACADEMIC YEAR: 2020-2021

DOCUMENT SHARED WITH: University of Medicine, Pharmacy and Odontostomatology's library in Bamako, Mali

SECTOR OF INTEREST : Molecular Biology / Virology

SUMMARY: In December 2019, the world was hit by an unprecedented pandemic. At the origin of this, a virus from the Coronaviridae family named SARS-COV-2, responsible for a new pathology affecting the human respiratory system. This disease is the coronavirus-19 also known as COVID-19. It was observed first time in the province of Hubei, in the city of Wuhan in China, then followed a rapid spread, causing a global health and economic crisis. Genomic sequencing of the SARS-COV-2 revealed numerous mutations within its genome, particularly in its surface glycoprotein or protein S or SPIKE (Pic).

The present study consisted in assessing the prevalence of SARS-COV-2 variants in COVID-19 positive individuals in Bamako, Mali. The RT-PCR test was used for the amplification of viral RNA before sequencing. In sum, the male sex was much more prone to infection with 56.79% of cases. The 21J Delta variant with 42% of cases detected was the most prevalent in Mali between April and October 2021. Communes 4 and 6 were the areas of Bamako district where the infection (and particularly the Delta variant) circulated the most.

Key words: SARS-COV-2, COVID-19, Spike glycoprotein, Genomic sequencing, variant, Bamako.

Serment de Galien

« Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;
- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères et consœurs si j'y manque. »

Je le jure.