

TABLES DES MATIERES

DEDICACES	iv
REMERCIEMENTS.....	vii
HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY	xi
SIGLES ET ABREVIATIONS.....	xvi
LISTE DES FIGURES	xix
LISTE DES TABLEAUX.....	xxi
1. INTRODUCTION.....	1
2. OBJECTIFS	3
2.1. Objectif général	3
2.2. Objectifs spécifiques.....	3
3. GENERALITES.....	4
3.1. Historique	4
3.1.1. Historique de la maladie à coronavirus-2019.....	4
3.1.2. Epidémiologie	5
3.1.3. Classification taxonomique.....	8
3.1.4. Structure et génome du SARS-CoV-2	8
3.1.5. Physiopathologie de l'infection du SARS-CoV-2 et réponse immunitaire	9
3.1.5.1. Mécanisme physiologique de l'infection par SARS-CoV-2	9
3.1.5.2. Réponse immunitaire.....	11
3.1.6. Mode de transmission	13
3.1.7. Période d'incubation	14
3.1.8. Symptomatologie	15
3.2. Diagnostic de la COVID-19	16
3.2.1. Méthodes de diagnostic.....	16
3.2.2. Techniques de Biologie Moléculaire	17
3.2.2.1. Réaction en chaîne de la polymérisation en temps réel (RT-PCR)	17
3.2.2.2. Xpert® Xpress SARS-CoV-2.....	19
3.2.3. Tests sérologiques ou immunologiques	22
3.2.4. Tests antigéniques	24

3.2.5. Technologies d'imagerie.....	25
3.2.6. Classification des cas confirmés de la COVID-19 dans le Diagnostic	26
3.3. Traitement, prévention et prise en charge	26
3.3.1. Traitement de la maladie à COVID-19	26
3.3.2. Prévention de la maladie à COVID-19	28
4. METHODOLOGIE.....	30
4.1. Cadre d'étude.....	30
4.1.1. Définitions opérationnelles	31
4.1.2. Site d'étude.....	32
4.1.3. Type, période d'étude.....	32
4.1.4. Population d'étude	32
4.1.5. Critères d' inclusion	32
4.1.6. Critères de non- inclusion	33
4.2. Méthodes au laboratoire	34
4.2.1. Réception.....	34
4.2.2. Inactivation (avec le kit d'extraction Argene®)	34
4.2.3. Procédure de l'extraction de l'ARN.....	35
4.2.4. Réaction de polymérisation en chaîne en temps réel (RT-PCR).....	35
4.3. Plan de collecte des données	41
4.4. Analyse de s données.....	41
4.5. Considérations éthiques	41
4.6. Sécurité Biologique au Laboratoire	42
5. RESULTATS	43
6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	51
6.1. Caractéristiques sociodémographiques et cliniques des patients	51
6.2. Temps moyen de clairance en fonction du sexe	51
6.3. Temps moyen de clairance en fonction du statut clinique.....	52
6.4. Temps moyen de clairance en fonction de la tranche d'âge	52
6.5. Temps moyen de clairance en fonction du Ct initial	52
6.6. Limites de l'étude	53
7. CONCLUSION	54
8. RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES.....	54

8.1. RECOMMANDATIONS	54
8.2. PERSPECTIVES	54
9. REFERENCES.....	55
10. ANNEXES.....	62

DEDICACES

A mon Papa adoré

Grâce à toi j'ai pu aller à l'école. Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement constituent pour moi un soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain ; je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. Je te serai reconnaissante toute ma vie, qu'Allah t'accorde une longue vie dans la santé, ...Amen !

A ma Maman Chérie Feue Kadia Coulibaly (paix A son âme)

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, le symbole de la tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à cette femme courageuse, généreuse et forte qui m'a protégée de toutes ses forces et qui m'a aimée de tout son cœur. Mais qui est partie si vite et qui serait contente d'apprendre que sa fille a enfin terminé le travail qu'elle avait commencé. Que Dieu, Tout le Puissant t'accorde le paradis.

A ma tata Rokia Bouaré et mon tonton Alioune Coulibaly

Vous m'avez tout donné pour ma réussite. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de vos sacrifices, de l'amour et de la tendresse dont vous n'avez jamais cessé de faire preuve. Que Dieu, le Tout Puissant, vous procure longévité et bonne santé.

A mes frère et Sœurs : Mohamed, Aïssata, Fatoumata et Maïmouna Sow
Vous vous êtes toujours préoccupés de moi en m'octroyant un soutien moral inestimable et apaisé. Vous avez toujours su me pousser à croire et aller de l'avant. Aujourd'hui aucun mot ne peut exprimer ma reconnaissance envers vous. Que Dieu, le Tout Puissant, nous unisse pour toute la vie pour honorer le combat de notre défunte maman.

A mon Mari Mamadou Diamouténé

Pour l'amour et l'affection qui nous unit. Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont tu as toujours fait preuve. Tu m'as toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, ton soutien m'a permis de réaliser le rêve tant attendu. Je te dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur. Je prie Dieu le Tout Puissant de préserver notre attachement mutuel, et d'exaucer tous nos rêves.

Mon beau-frère Siaka Sangaré

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragement. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.

Etudiants de la 12^{ème} promotion du Numérus clausus de la faculté de pharmacie

Dr Nana Touré, Dr Aichata Sidibé, Dr Assan Samaké, Dr Kadidiatou Cissé, Dr Rokia Koné, Dr Ninata Dembélé, Dr Aminata Tangara, Dr Adama Traoré, Dr Seydou Dembélé, Dr Souleymane Kassougué et à tous les membres de la douzième promotion de numerus clausus : Merci pour les moments partagés.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail

Merci pour le soutien moral, l'aide précieuse inestimable et désintéressée apportée tout au long de ce travail. << Rien n'a plus de valeur sur terre qu'un cœur pur et généreux. Et c'est parmi les gens les plus simples que se cachent les plus grands trésors d'amour et de bonté>>.

REMERCIEMENTS

Au Professeur Bassirou Diarra

Je suis très sensible à l'honneur que vous m'avez faite en me confiant ce sujet. Votre modestie et votre simplicité font de vous en plus de vos qualités professionnelles, une référence de bon sens de compétence. La gentillesse et la bienveillance avec lesquelles vous avez guidé mes pas dans ce travail ont suscité ma bonne volonté de donner de mon mieux. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma haute considération, ma profonde reconnaissance et ma sincère gratitude.

Au Professeur Seydou Doumbia

Je remercie également le Pr Seydou Doumbia, directeur de l'UCRC de m'avoir accueillie au sein de votre programme. Nous vous remercions de la confiance et de la chance que vous nous avez accordée, pour la réalisation de ce travail.

Au Dr Moumine SANOGO

Vous avez été plus qu'un Maître, vos conseils, votre amour du travail bien fait, votre humanisme, votre modestie, votre droiture nous ont profondément marqué. Infatigable, courageux, patient, nous avons admiré votre simplicité, votre courtoisie et l'ambiance cordiale dans laquelle nous avons travaillé qui constituent sans doute une infime partie de vos nombreuses qualités. Merci pour tout, et que le bon DIEU vous accorde une bonne santé et vous prête une longue vie.

Au Dr Antieme Combo Georges TOGO

Merci pour votre encadrement et pour votre disponibilité, vos conseils ont permis la réalisation de ce travail.

Au Dr Sidy BANE

Merci de nous avoir encadré durant notre formation et pour vos conseils.

Au Professeur Yeya dit Sadio SARRO

Plus qu'un Maître, vous avez été un grand frère, vos conseils, votre simplicité, votre humanisme, votre amour pour le travail, votre modestie et votre disponibilité m'ont profondément marquée. Merci pour tout, et que le tout puissant Allah vous le rende au centuple.

Au Dr Bourahima KONE

Ce travail est le fruit de votre encadrement, vous avez été une inspiration pour moi au cours de ma formation et depuis ce jour vous êtes une idole pour moi. Merci pour les formations reçues tout au long de notre séjour au laboratoire SEREFO/UCRC.

Au Dr Ousmane KODIO

Je tiens à vous remercier pour votre disponibilité, vos conseils, vos encouragements inconditionnels et vos bénédictions, qu'ALLAH vous prête longue vie de bonheur et de santé.

Au Professeur Amadou KONE et toute l'équipe de l'Unité du laboratoire génomique et de Biologie Moléculaire

Merci pour votre grand humanisme et courtoisie et votre disponibilité tout au long de ce travail.

Au Professeur Almoustapha MAIGA et toute l'équipe de l'unité de la résistance aux Antirétroviraux (ARV)

Merci pour les efforts consentis pour la réalisation de ce travail. Je vous remercie également pour la collaboration et les moments de joie partagés. Que le Seigneur vous paye au centuple.

Au Professeur Djènèba Koumba DABITAO et toute l'équipe de l'Unité du laboratoire Core-Immunologie

Les mots me manquent pour vous exprimer toute la joie que j'ai dans le cœur. Vous avez été toujours là pour la réalisation de ce travail. Votre courtoisie, votre gentillesse et l'ambiance cordiale dans laquelle nous avons travaillé.

Aux cliniciens de l'UCRC : Dr Bocar BAYA, Dr Mohamed Tolofoudie , Dr Amadou Somboro

Merci ne suffira pas pour vous témoigner la qualité de l'encadrement et vos bons conseils reçus.

A notre tante : Oumou NIARE

Toujours souriante, vous avez été toujours présente pour la réalisation de ce travail. Votre gentillesse et votre courtoisie font de vous une femme exemplaire. Merci pour les moments partagés, que le Tout Puissant Allah vous prête une longue vie de santé et de bonheur.

A toute l'équipe du laboratoire P-3 de Mycobactériologie et des fièvres hémorragiques de l'UCRC :

M. Gagni Coulibaly, M. Mahamadou KONE, Mme Nagnouma BALLO, Mme Fatimata Diallo, M. Boureïma Degoga, Mme Mariame Goumané, Dr Fanta Sanogo, M. Fah Gaoussou Traoré, Dr Hawa Baye Dramé

Je tiens à vous remercier pour votre accueil chaleureux, pour vos encouragements, et pour l'enseignement que j'ai reçu de chacun de vous. Ce travail est le vôtre.

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du jury : Professeur Mahamadou Diakite

- Professeur titulaire d'Immunologie à l'USTTB,
- PhD en Immunogénétique à l'Université d'Oxford ;
- Vice-recteur de l'USTTB ;
- Responsable du Laboratoire Immunogénétique et Parasitologie MRTC ;
- Directeur Scientifique Adjoint du Centre Universitaire de Recherche Clinique ;
- Secrétaire Permanent du comité d'Ethique de l'USTTB.

Cher Maître,

C'est pour nous un grand honneur de vous avoir comme président du jury. Vous nous avez reçu avec beaucoup d'amabilité. Votre esprit d'ouverture et votre amour pour le travail bien fait vous procurent respect et considération. La qualité de vos enseignements fait de vous un maitre model. Veuillez accepter Cher Maître l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et juge : Professeur Ibrehima GUINDO

- Pharmacien Microbiologiste ;
- Maître de conférences agrégé en Bactériologie-virologie à la FAPH ;
- Chef de département laboratoire et recherche biomédicale à l'Institut National de Santé Publique (INSP),

Cher Maître,

Vous avez accepté de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations. Votre ponctualité, votre simplicité, votre rigueur scientifique sont entre autres des qualités enviées de tous. Les mots nous manquent pour vous remercier. Cher Maître recevez-ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et juge : Professeur Amadou Koné

- Maître de conférences en Biologie moléculaire et cellulaire de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB) ;
- Enseignant-chercheur de biologie moléculaire et cellulaire à la faculté des sciences et techniques (FST) de Bamako au Mali ;
- Chef d'unité du laboratoire de génomique et de biologie moléculaire au centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC)-USTTB ;
- Membre certifié en biosécurité et bio sûreté de la Fédération Internationale des associations de Biosécurité (IFBA) ainsi que de plusieurs associations et organisation dans le domaine de la biologie et du génie génétique ;
- Président de la commission nationale d'organisation de la fête des Science au Mali.

Cher Maître,

Nous sommes très reconnaissants d'avoir pu bénéficier de votre diligence, votre disponibilité, la clarté de vos explications, la qualité de votre raisonnement ainsi que votre accueil fraternel font de vous un exemple à suivre.

A notre Maître et Co-Directeur : Dr Moumine SANOGO

- Pharmacien ;
- Master 2 recherche sciences de la vie et de la terre à l'Université de Cergy Pontoise, France ;
- Attestation de formation spécialisée (ASF) de Biologie médicale (Biochimie, hématologie, immunologie, bactériologie-virologie) à l'Université René Descartes Paris 5, France ;
- Ancien Faisant Fonction Interne (FFI) en biologie médicale de l'Assistance Publique des Hôpitaux de Paris (AP-HP) ;
- Senior Chercheur et responsable adjoint du laboratoire P3 de tuberculose de UCRC.

Cher Maître

Nous vous remercions infiniment pour cette opportunité que vous nous avez donnée de travailler à vos côtés au sein de votre admirable unité du laboratoire de Mycobactériologie et des fièvres hémorragiques de UCRC. Nous avons été marqués par votre simplicité, votre disponibilité et votre modestie.

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

A notre Maître et Directeur de thèse : Professeur Bassirou DIARRA

- Médecin, Titulaire d'un Master en Sciences en Médecine Tropicale de l'Université de Nagasaki au Japon
- Titulaire de PhD à l'Institut de Médecine Tropicale et l'Université d'Anvers en Belgique
- Maître de conférences en Bactériologie-Virologie à la FMOS
- Senior Chercheur et Responsable du laboratoire P-3 de Mycobactériologie et des fièvres hémorragiques de UCRC
- Membre de l'équipe d'intervention rapide de la CEDEAO contre les fièvres hémorragiques

Cher Maître,

Nous vous remercions infiniment pour cette opportunité que vous nous avez donnée de travailler à vos côtés au sein de votre admirable unité de l'UCRC. Le plaisir et la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de m'encadrer, de me conseiller, de m'encourager m'a profondément marqué. Qu'Allah vous assiste, vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur. Amen !!

SIGLES ET ABREVIATIONS

Ac	Anticorps
ACE 2	Angiotensin Converting Enzyme 2 (Enzyme de Conversion de l'Angiotensine 2)
ACT	Accélérateur
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	Antigène
ARN	Acide Ribonucléique
ARNm	Acide Ribonucléique messenger
BSL-3	Biosafety Laboratory Level 3 (Laboratoire de biosecurité niveau 3)
BW5	Buffer Wash 5
CD147	cluster de différenciation 147
cDNA	Acide désoxyribonucléique Complémentaire
CESAC	Centre de Soins, d'Animation et de Conseils
CICM	Centre Infectiologie Charles Mérieux
CIII	Commune III
CIV	Commune IV
CoV	Coronavirus
COVAX	COVID-19 Vaccines Global Access (Accès mondial aux vaccins COVID-19)
COVID-19	Coronavirus Disease 2019 (Maladie à Coronavirus 2019)
CQ	Chloroquine
CSREF	Centre de Santé de Référence
CT	Tomodensitométrie
Ct (value)	Cycle Threshold (Valeur seuil du cycle)
CVI	Commune VI
CY5	Cyanine 5 (fluorophores)
DNTPs	Désoxyribonucléotide Triphosphate
ELISA	Enzyme-Linked immunosorbent assay (Methode immuno enzymatique)
EPC	Équipements de Protections Collectives

EPI	Équipements de Protections Individuelles
FFP 2,3	Filtering Face Piece (Pièce faciale filtrante)
HCoV	Human Coronavirus (Coronavirus Humains)
HCoV- HKU1	coronavirus humains-Hong Kong University 1
HCQ	Hydroxychloroquine
IA	Intelligence Artificielle
IgG	Immuno globuline G
IgM	Immuno globuline M
IL	Interleukine
INSP	Institut National de Santé Publique
LBMA	Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée
LHSP	Lymphohistiocytose hémophagocytaire secondaire
MERS CoV	Middle East Respiratory Syndrome Related Coronavirus (Coronavirus lié au syndrome respiratoire du Moyen-Orient)
n-CoV	Nouveau coronavirus
NIAID	National Institute of Allergy and Infectious Diseases (Institut national des allergies et des maladies infectieuses)
OIE	Organisation Internationale des Épizooties (de la santé animale)
OOAS	Organisation Ouest Africaine de la Santé
P2	Laboratoire de niveau de risque biologique 2
RaTG13	<i>Rhinolophus affinis</i> , Tongguan, 2013
RDRP	SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA Polymerase (ARN polymérase ARN-dépendant du SARS-CoV-2)
RT	Reverse Transcriptase (ou Transcriptase inverse)
RT-PCR	Real Time Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaîne en temps réel)
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrom of Coronavirus 2 (Syndrome respiratoire Aigu Sévère du Coronavirus 2)
SCB-2019	Sub-unit COVID-19 Clover Biopharmaceuticals (sous-unité COVID-19 Clover Biopharmaceuticals)

sHLH	Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis (Lymphohistiocytose hémophagocytaire secondaire)
SIDA	Syndrome d'Immuno Déficience Acquis
TB	Tuberculose
TDM	Tomodensitometrie
TDR	Test de Diagnostic Rapide
TMPRSS2	Serine Protéase Transmembrane 2
TNF	Tumor Necrosis Factor (facteur de necrose tumorale)
UCRC	University Clinical Research Center (Centre Universitaire de Recherche Clinique)
USTTB	Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako
VIC	Valeur du Contrôle Interne
VIH	Virus de l'Immunodeficiency Humaine
WHO	World Health Organisation (Organisation Mondiale de la santé)

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Carte de l'épidémie de COVID-19 dans le monde, 20 septembre 2022 (29).....	7
Figure 2 : Particule virale du SARS-CoV-2 vue au microscope électronique /(24).....	8
Figure 3: Structure de SARS-CoV-2	9
Figure 4 : Cycle de multiplication intra cellulaire du SARS-CoV-2.....	11
Figure 5 : Représentation schématique des voies respiratoires inferieures ou intrathoraciques ..	12
Figure 6 : Transmission du SARS -CoV-2	14
Figure 7 : Techniques de prélèvement nasopharyngé (A) et prélèvement oropharyngé (B) d'un cas suspect de COVID-19.....	16
Figure 8 : Exemple du prélèvement sanguin sur le tube sec pour la recherche des anticorps spécifiques du SARS-CoV-2 -COV-2	17
Figure 9 : Principe de la Transcription inverse.....	18
Figure 10 : Différentes étapes de la PCR.....	19
Figure 11 : Equipement du test de Xpert® Xpress SARS-CoV-2.....	20
Figure 12 : Résultat d'un patient négatif	21
Figure 13 : Résultat d'un patient positif	21
Figure 14 : Exemple des résultats du test rapide antigénique de COVID-19.....	22
Figure 15 : Exemple des résultats du test rapide antigénique de SARS-CoV-2.....	24
Figure 16 : Imagerie pulmonaire d'un patient affecté par la COVID-19	25
Figure 17 : Inactivation de l'échantillon dans le laboratoire P-3.....	34
Figure 18 : Insertion de la plaque dans la machine AB7500 Fast pour la détection du virus SRAS-COV-2 dans le laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génomique	35
Figure 19 : Machine de PCR en temps réel du laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génomique.....	37
Figure 20 : Exemple de résultat positif au laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génomique	38
Figure 21 : Exemple de résultat négatif au laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génomique	39
Figure 22 : Exemple de résultat invalide au laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génomique	40
Figure 23 : Schéma descriptif de notre étude	43

Figure 24 : Répartition des patients en fonction de la provenance	45
Figure 25: Répartition des patients en fonction du temps de clairance en fonction du sexe	47
Figure 26 : Répartition des patients en fonction du temps de clairance virale et le statut clinique	48
Figure 27 : Répartition des patients en fonction du temps de clairance virale et la tranche d'âge	49
Figure 28: Répartition des patients en fonction du temps de clairance virale et la valeur CT initiale (Ct ₀).....	50
Figure 29: Equipements de protection individuelle pour le prélèvement au laboratoire.....	62

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Résultat et interprétation du test rapide sérologique du SARS-CoV-2.....	23
Tableau II : Résultat et interprétation du test rapide antigénique	25
Tableau III: Protocole de prise en charge des patients adultes symptomatiques de COVID-19 au Centre Hospitalier Universitaire du Point « G » (Mali).....	28
Tableau IV: Programme de la machine AB7500 Fast real time.....	36
Tableau V: Répartition des patients en fonction des caractéristiques sociodémographiques	44
Tableau VI: Répartition des patients en fonction du temps de clairance	46

1. INTRODUCTION

Le monde fait face depuis décembre 2019 à une nouvelle menace sanitaire sous le nom de la maladie à « coronavirus 2019 », en abrégée « COVID-19 ». Depuis son apparition pour la première fois en Chine dans la province de Wuhan, le virus n'a cessé de se propager au point de passer du stade d'épidémie à celui de pandémie à la date du 11 mars 2020 (1). Le 7 janvier 2020, la communauté scientifique de Chine a décrit le virus responsable de la maladie comme étant un virus appartenant à la famille des coronavirus, baptisé temporairement « 2019-nCoV » puis définitivement « SARS-CoV-2 » (2). Le continent africain a signalé son premier cas de COVID-19 le 14 février 2020 en Égypte. Dès lors jusqu'au début du mois d'avril 2020, presque tous les pays d'Afrique ont successivement signalé la présence de cas positifs de la COVID-19 sur leurs territoires (3). D'après les estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) à la date du 19 Septembre 2022, plus de 609 247 113 cas confirmés et 6 503 894 décès ont été enregistrés dans plus de 220 pays à travers le monde. Elle est devenue en 2021, la première cause de décès dues à un seul agent infectieux dépassant la tuberculose (4) et constitue aujourd'hui un problème majeur de santé publique au niveau mondial. Elle est très contagieuse et dangereuse notamment pour les personnes présentant un système immunitaire défaillant, les personnes âgées (plus de 60 ans) et toutes autres maladies chroniques comme le diabète et l'hypertension artérielle (5). Au Mali, dans une étude de séroprévalence chez les travailleurs de santé, les participants avec comorbidités comme l'obésité, l'asthme avaient une séropositivité plus élevée avec implication probable d'autres facteurs de décès liés à la COVID-19 (6),(7). Les manifestations cliniques de la maladie à COVID-19 sont non spécifiques et très variables. Avant la vaccination, les symptômes les plus courants (toux, rhume, fatigue, maux de gorge...) avaient tendance à apparaître environ 2 à 14 jours après le premier contact avec le virus (8). La plupart des personnes infectées développent une forme légère ou modérée de la maladie et guérissent.

Depuis février 2020, le Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) a commencé les premiers tests de COVID-19 et a enregistré les deux premiers cas de COVID-19 au Mali, le 25 mars 2020 (9). Pour bien lutter contre cette pandémie, les autorités sanitaires Maliennes ont mobilisé plusieurs structures de santé y compris des laboratoires de recherche comme le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM), le Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée (LBMA), le Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) et le laboratoire de l'Institut National de Santé Publique (INSP).

A la date du 19 Septembre 2022, le Mali a enregistré au total plus 32 508 cas positifs dont 740 décès (11). De nos jours, il existe différentes méthodes de diagnostic du SARS-CoV-2 (RT-PCR, radiologiques, antigéniques, sérologiques, etc.) (12). La méthode RT-PCR étant une technique de détection et d'amplification de l'ARN du virus, est beaucoup plus sensible et spécifique (13). Elle permet de déclarer qu'un échantillon est positif au SARS-CoV-2, d'apprécier le niveau d'infectiosité d'une personne malade grâce à sa valeur Ct (Cycle Treshold ou nombre de cycle pour avoir un signal détectable) et de suivre l'évolution de la maladie sous traitement.

Au début de cette pandémie au Mali, les personnes confirmées étaient toutes traitées dans des centres de prise en charge spécifique avec accès limité. Ainsi les patients confirmés étaient invités à prendre gratuitement le traitement dans le centre le plus proche avec ou sans hospitalisation en fonction des signes de gravité. Le traitement donné en fonction du poids et de l'âge était constitué par la Chloroquine (250mg) pendant 10 jours ; l'Azithromycine (500 mg) pendant 5 jours et la Vitamine C (1000 mg) pendant 10 jours.

La pandémie de SARS-CoV-2 non seulement peut attaquer tous pays et tous les groupes d'âges, mais aussi les personnes atteintes peuvent faire un long temps d'absentéisme au travail du fait de ses manifestations cliniques de durée plus ou moins longue malgré le traitement. Mais cette période d'absentéisme ou encore la durée de vie (temps de négativation) du SARS-CoV-2 dans la population n'a pas été suffisamment explorée au Mali. C'est ainsi que, vu les différentes manifestations cliniques provoquées par le virus, nous nous proposons dans cette étude de déterminer la durée de positivité du SRAS-CoV-2 chez les patients sous traitement à Bamako.

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

Etudier le temps moyen de clairance virale chez les patients infectés par le SARS-CoV-2 sous traitement à Bamako.

2.2. Objectifs spécifiques

- Déterminer les caractéristiques sociodémographiques des patients infectés par le SARS-CoV-2 sous traitement ;
- Connaître le temps moyen de clairance des patients infectés par le SARS-CoV-2 en fonction du statut clinique, de l'âge et le sexe ;
- Analyser le temps moyen de clairance des patients infectés par le SARS-CoV-2 en fonction de leur Ct initial.

3. GENERALITES

3.1. Historique

3.1.1. Historique de la maladie à coronavirus-2019

Les coronavirus sont une grande famille appartenant à la famille des *Coronaviridae* dans l'ordre des *Nidovirales*. Le premier coronavirus a été identifié en 1965 et est devenu depuis une grande famille (10). Le nom "corona" provient des pointes en forme de couronne sur la surface extérieure de la famille de virus, visibles au microscope électronique (11). La famille des coronavirus se compose de virus d'origine zoonotique qui infectent l'homme, d'autres mammifères et les oiseaux, et se caractérisent par un ARN monocaténaire comme matériel nucléaire à l'intérieur d'une nucléocapside.

Le génome entier du SARS-CoV-2 s'est révélé identique à 96 % à celui de la souche de coronavirus analogue au SRAS de la chauve-souris, Bat CoV RatG13, ce qui appuie l'hypothèse selon laquelle le SARS-CoV-2 est très probablement apparu chez les chauves-souris (12),(13). Les pangolins de Malaisie ont été proposés comme hôte intermédiaire entre les chauves-souris et l'homme, montrant à nouveau de grandes similitudes entre la souche intermédiaire et la souche humaine (14),(15)(16). Les coronavirus sont classés en quatre genres (a, b, g et d), les coronavirus « a » et « b » étant d'une importance clinique pour l'homme (11). Le SARS-CoV-2 a été isolé pour la première fois dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire de patients atteints de COVID-19 à Wuhan, en Chine. Après séquençage du génome et analyse phylogénique, il a été déterminé que le SRAS-CoV-2 est un membre du groupe des Beta-coronavirus (17).

Le syndrome respiratoire du au coronavirus existe depuis des années et on peut citer notamment :

- le syndrome respiratoire aiguë sévère (SARS-CoV-1): le SARS-CoV-1, apparu pour la première fois en Chine en novembre 2002, qui a provoqué une épidémie à partir de mai 2003 dans 29 pays, infectant plus de 8 000 personnes et 916 morts. La maladie s'est manifestée jusqu'en mai 2004 (18).
- le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) : a été détecté pour la première fois en 2012 en Arabie Saoudite. Il a été responsable en 2012 et en 2015 d'une épidémie localisée, respectivement au Moyen-Orient et en Corée du Sud. Son taux de létalité était de 38%. A la date du 21 mars 2016, l'OMS annonçait un nombre total mondial de 1 694 cas de MERS-CoV et 605 morts répartis dans 25 pays (19).

- le syndrome respiratoire aiguë sévère (SARS-CoV-2) : En décembre 2019, un nouveau coronavirus a été détecté en Chine (20) . A l'origine, un groupe de patient a été admis avec fièvre, toux, essoufflement et autres symptômes où ils ont été scannés à l'aide de la tomodensitométrie (CT). Une analyse supplémentaire des acides nucléiques utilisant la réaction en chaîne par polymérase en temps réel multiplex (RT-PCR) (21). Le 10 janvier 2020, des échantillons de liquide de lavage bronchoalvéolaire des patients ont été analysés pour révéler un agent pathogène avec une séquence génétique similaire à la lignée des bêta coronavirus B. Il a été découvert que ce nouveau pathogène présentait une similitude environ 80%, 50% et 96% avec le génome du virus du syndrome respiratoire aiguë sévère (SARS-CoV), du virus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) et de la chauve-souris coronavirus RaTG13, respectivement (22).

3.1.2. Epidémiologie

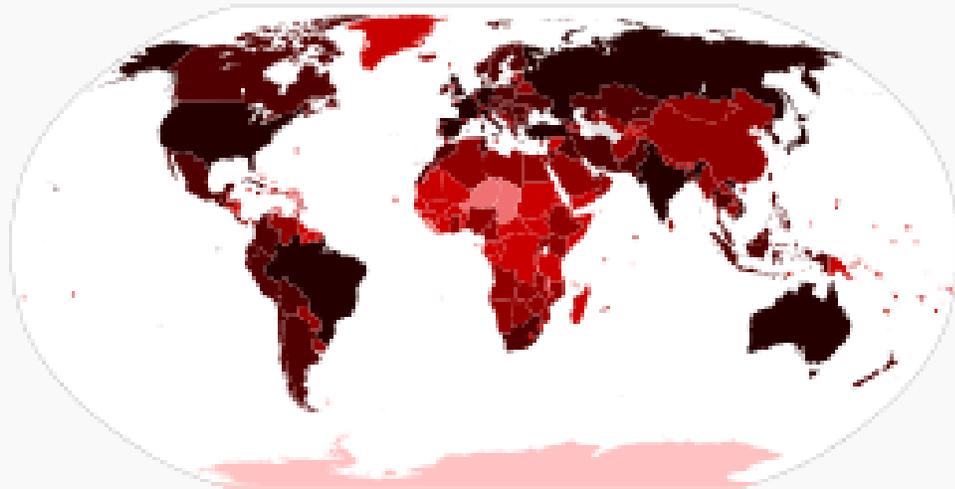
➤ Epidémiologie Globale (quelques dates importantes depuis sa découverte) :

- Depuis l'apparition de la maladie à coronavirus, l'OMS a signalé le premier cas en dehors de la Chine le 13 janvier 2020 en Thaïlande.
- Le 31 janvier 2020, la directrice régionale de l'OMS pour l'Afrique envoie une note à tous les pays de la région soulignant l'importance de la préparation et de la détection rapide des cas (3).
- Le 11 février 2020, l'OMS a nommé le virus SRAS-CoV-2 comme COVID-19 (23).
- Le 30 janvier 2020, sur la base de l'avis du comité d'urgence de Règlement Sanitaire International RSI, le directeur général de l'OMS déclare la flambée de nouveau coronavirus, « une urgence de santé publique de portée internationale ».
- Le 14 février 2020, le continent Africain a enregistré son premier cas de COVID-19 en Egypte (24).
- Le 11 mars 2020, la maladie a envahi au moins 114 pays et tuée plus de 40000 personnes et a été déclarée officiellement comme une pandémie (22).
- L'Afrique du Sud est placée en tête en Afrique avec 3 695 175 cas positifs et 99 725 décès en 15 mars 2022(25).
- Le 25 mars 2020, le Mali a enregistré son premier cas de COVID-19 chez des patients venus de l'étranger (32).

Les autorités ont annoncé dans un communiqué de presse officiel qu'il s'agissait de deux Maliens rentrés de France les 12 et 16 mars 2020. Après les premiers cas du District de Bamako, la maladie s'est propagée pour atteindre neuf régions (Kayes, Koulikoro, Sikasso, Ségou, Mopti, Tombouctou, Gao, Kidal et Ménaka) et 45/75 districts sanitaires.

- Le 1^{er} avril 2020, les infections mondiales confirmées ont atteint 1 000 000 avec un bilan mondial de 50 000 décès. Le SARS-CoV-2 est maintenant présent dans plus de 190 pays sur cinq continents(26).
- Près de 3 ans après, à la date du 19 Septembre 2022, plus de 609 247 113 cas confirmés et 6 503 894 décès ont été enregistrés dans plus de 220 pays à travers le monde(27). Les pays les plus touchés en cette date, figurent les États-Unis d'Amérique avec 94 237 260 cas confirmés, et 1 041 323 morts ; suivi de l'Inde avec 44 539 046 cas confirmés et 528 355 décès (27).
- A la date du 19 septembre 2022, au Mali au même moment, la situation cumulée des cas de COVID-19 a été de plus 32 508 cas positifs avec 740 décès enregistrés. La ville de Bamako a constitué le foyer principal de la pandémie avec 61,5% des cas confirmés du pays, elle est respectivement suivie de Koulikoro avec 11,3% et Tombouctou avec 9% .

Pandémie de Covid-19



Expansion du virus SARS-CoV-2 dans le monde au 20 septembre 2022¹.

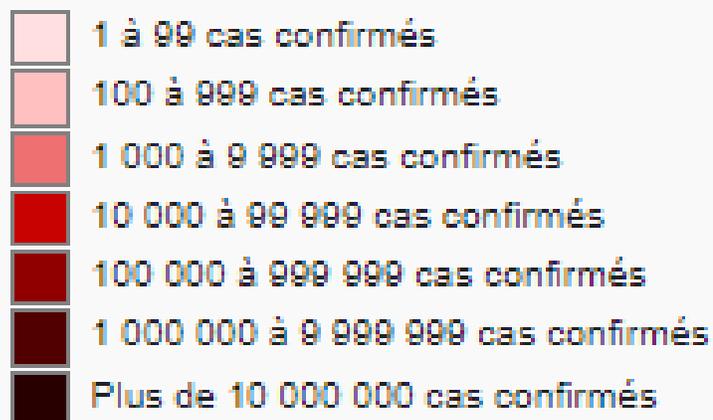


Figure 1 : Carte de l'épidémie de COVID-19 dans le monde, 20 septembre 2022 (28)

3.1.3. Classification taxonomique

Le SARS-CoV-2 est un virus ayant des origines zoonotiques. Il appartient à la famille des *Coronaviridae* qui se divise en quatre genres : *Alpha coronavirus*, *Beta coronavirus*, *Delta coronavirus*, *Gamma coronavirus* (29). On distingue six espèces principales, responsables des infections humaines ; quatre sont responsables de pathologies bénignes chez les patients immunocompétents (HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 et HCoV- HKU1) ; deux autres sont responsables d'épidémies graves et mortelles : le SARS-CoV et le MERS-CoV.

3.1.4. Structure et génome du SARS-CoV-2

Les coronavirus (CoV), possèdent un génome ARN enveloppé non segmenté, simple brin, sens positif (23). Leurs tailles varient entre 26 à 32 kilobases. Ils possèdent le plus grand génome connu pour un virus à ARN.

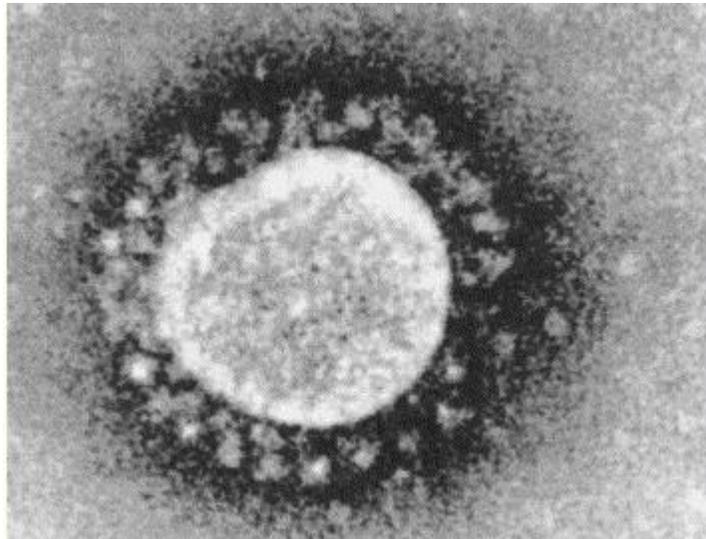


Figure 2: Particule virale du SARS-CoV-2-CoV-2 vue au microscope électronique (23)

Les Coronavirus sont des virus de formes sphériques, enveloppés, ayant 60 à 220 nm de diamètre. Leur structure comporterait une nucléocapside hélicoïdale à l'intérieur d'une capsid de structure icosaédrique, tout ceci est entourée d'une enveloppe membranaire lipidique, qui a son tour est protégé par une glycoprotéine de surface (30).

Ils sont composés de :

- des protéines structurelles (S),
- l'enveloppe (E),
- la membrane (M) et
- la nucléocapside (N). La protéine de nucléocapside joue un rôle important dans la transcription et réplication de l'ARN génomique (31).

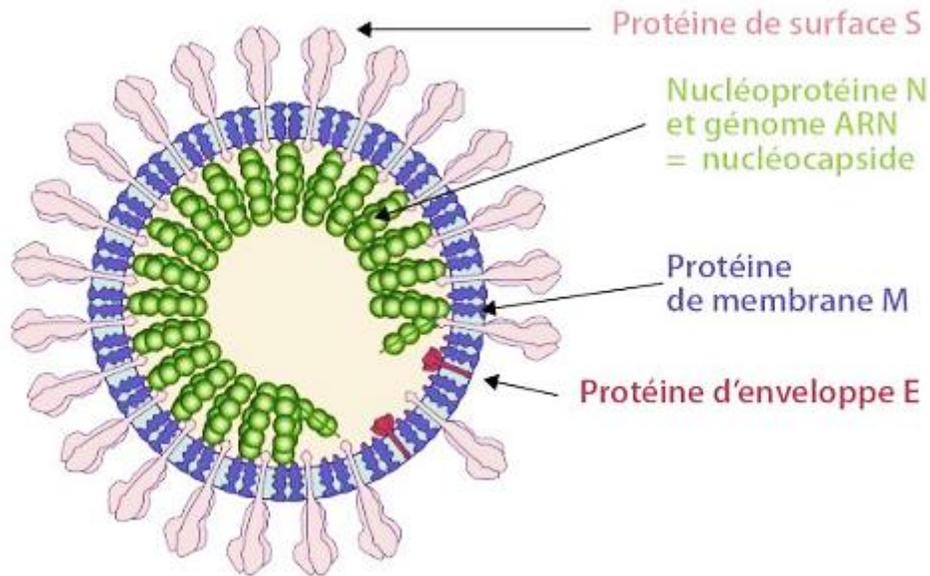


Figure 3: Structure de SARS-CoV-2

(32)

3.1.5. Physiopathologie de l'infection du SARS-CoV-2 et la réponse immunitaire

Le processus physiopathologique de la COVID-19 est complexe et n'est pas encore entièrement décrit. Lors d'une infection par le coronavirus, l'apparition d'une inflammation est déclenchée par le virus qui est la traduction physiologique de cytokines. Cette réponse inflammatoire se propage dans tout l'organisme de la circulation sanguine.

3.1.5.1. Mécanisme physiologique de l'infection par SARS-CoV-2

Le SARS-CoV-2 s'introduit dans l'organisme par voie aérienne. Il infecte majoritairement les cellules des voies respiratoires supérieures de l'homme : les pneumocytes (les cellules épithéliales bronchiques).

La glycoprotéine de surface ou protéine SPIKE du SARS-CoV-2 joue un rôle important dans l'entrée du virus dans la cellule hôte. Elle représente le point par lequel le virus se fixe au récepteur ACE 2 des pneumocytes de type 2. Après la fixation à ACE2, la spicule virale (S) est coupée en deux parties par une protéase de la cellule hôte. Parmi ces protéases, la molécule TMPRSS2 qui est présente à la surface de la cellule permet la pénétration du virus dans la cellule (33). L'ACE2 est une protéine largement exprimée dans le cœur, les vaisseaux, les intestins, les poumons (en particulier dans les pneumocytes de type 2 et les macrophages), les reins, les testicules et le cerveau. Sa présence dans ces différents organes semble expliquer la variété des tableaux cliniques et des complications liées au COVID-19 (32). Son rôle physiologique est de dégrader l'angiotensine II, afin d'en limiter les effets négatifs (vasoconstriction, inflammation, thrombose). Le virus une fois à l'intérieur, libère son matériel génétique et son génome est immédiatement traduit par la machinerie cellulaire pour produire les protéines non-structurales et qui vont induire de réarrangement de membrane. La réplication du génome est faite grâce à l'ARN polymérase, le génome sera traduit et formera des protéines « S », « M », « N » et « E ». Ensuite de nouveaux virions formés s'échapperont de la cellule pour infecter de nouvelles cellules (34).

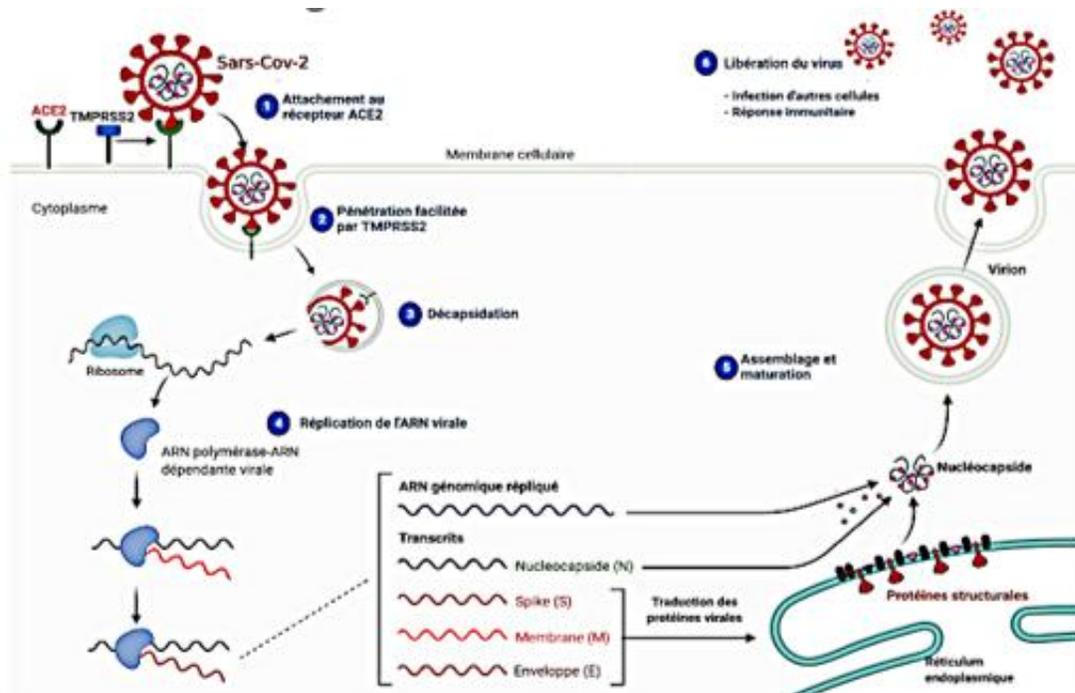


Figure 4: Cycle de multiplication intra cellulaire du SARS-CoV-2

(34)

ACE2 étant le principal récepteur cellulaire du SARS-CoV-2, il a été suggéré qu'une forte expression d'ACE2 conduisait à une susceptibilité accrue à l'infection. Les patients diabétiques ou atteints de cancer, qui expriment plus fortement ACE2, soient à risque de formes graves.(35)

3.1.5.2. Réponse immunitaire

Le corps contient des organes du système immunitaire qui est la meilleure défense et protège contre les maladies (36). Il joue un rôle clé dans le maintien de la santé et de la pathogénicité. Il protège également l'organisme contre les substances nocives, des germes et des modifications cellulaires (néoplasme) (37). L'acteur clé du système immunitaire est constitué par les globules blancs, qui peuvent se déplacer dans tout le corps par l'intermédiaire des vaisseaux sanguins et lymphatiques. Pour surveiller les microbes envahisseurs, l'organisme échange des cellules et des fluides entre les vaisseaux sanguins et lymphatiques et active le système lymphatique.

La principale cause de mortalité des patients atteints de COVID-19 est l'insuffisance respiratoire due au syndrome de détresse respiratoire aiguë (38).

La lymphohistiocytose hémophagocytaire (Trouble rare cause d'un dysfonctionnement immunitaire chez les nourrissons et les jeunes enfants) secondaire (LHSP) se caractérise par un orage de cytokine. Elle est fulminante et fatale et s'accompagne d'une défaillance de plusieurs organes. Son mécanisme reste méconnu.

La sHLH (est un événement hyperinflammatoire potentiellement mortel déclenché par des infections virales, y compris le SARS-CoV-2), ressemblant à un profil de cytokines, est associée à la gravité de la maladie COVID-19, caractérisée par une augmentation de l'interleukine (IL)-2, de l'IL-7, de la protéine 10 inductible par l'interféron, du facteur de stimulation des colonies de granulocytes, de la protéine inflammatoire des macrophages 1, de la protéine chimiotactique des monocytes 1 et du facteur de nécrose tumorale- (TNF-)(39).

3.1.5.3. Anatomie des voies respiratoires

Les voies respiratoires chez l'homme permettent les échanges d'air entre l'atmosphère et les poumons. Elles sont constituées de deux voies :

- Les voies respiratoires supérieures sont extra thoraciques composées du nez, des fosses nasales, de la bouche et du pharynx.
- Les voies respiratoires inférieures sont intra thoraciques qui amènent l'air des voies respiratoires jusqu'aux alvéoles pulmonaires, c'est la partie la plus influencée dans l'infection de SARS-CoV-2. Ils sont composés d'une zone de conduction : larynx, trachée, bronches (souches et lobaires), bronchioles et d'une zone d'échange (conduits et sacs alvéolaires, alvéoles pulmonaires).

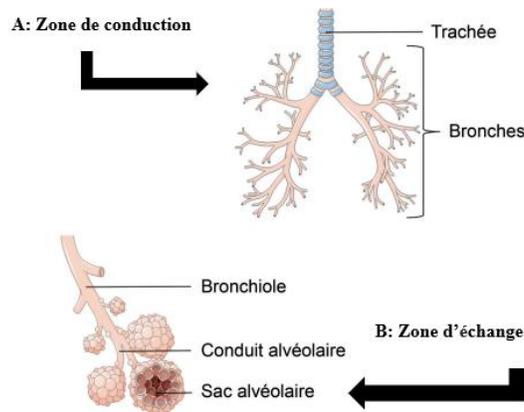


Figure 5: Représentation schématique des voies respiratoires inférieures ou intrathoraciques (40)

3.1.5.4. Reservoir de virus

Les animaux sauvages et les chauves-souris sont considérés comme les hôtes réservoirs naturels et jouent un rôle crucial dans la transmission des coronavirus (41). En outre, les infections aux coronavirus ont été signalées chez des bovins, des porcs, des chevaux, des chameaux, des rongeurs, des chats, des chiens, des chauves-souris, des civettes de palme, des furets, des visons, des lapins, des serpents et plusieurs autres espèces d'animaux sauvages et aviaires (42). Le coronavirus est identique à 96% au niveau du génome entier à un coronavirus de chauve-souris, et qui sont considéré actuellement comme l'hôte le plus possible du SARS-CoV-2 (43). Il peut y avoir plusieurs hôtes intermédiaires pour ce virus comme le vison ou encore le pangolin (44).

3.1.6. Mode de transmission

La maladie à coronavirus (COVID-19) possède plusieurs modes de transmission: de l'animal à l'homme et/ou interhumaine est possible (30).

➤ De l'animal à l'homme

La transmission d'un animal à l'homme représente un risque relativement faible, mais la première transmission des infections au coronavirus a été signalée chez les animaux sauvages. L'homme peut se contaminer en manipulant des animaux infectés (45).

➤ De l'homme à l'homme (transmission interhumaine)

La transmission interhumaine est avérée, qui sont généralement transmis lors de contacts étroits par l'inhalation des liquides biologiques (de gouttelettes infectieuses émises lors d'éternuements ou de toux, et/ou des salive) des personnes infectées ou par intermédiaire d'environnements contaminés. La contagiosité est très variable selon l'état du patient et la nature du contact. Elle augmente avec la multiplication virale et la présence de symptôme. Les virus de COVID-19 peuvent survivre jusqu'à 3 heures dans l'air libre, et plusieurs jours sur des surfaces inertes (46).

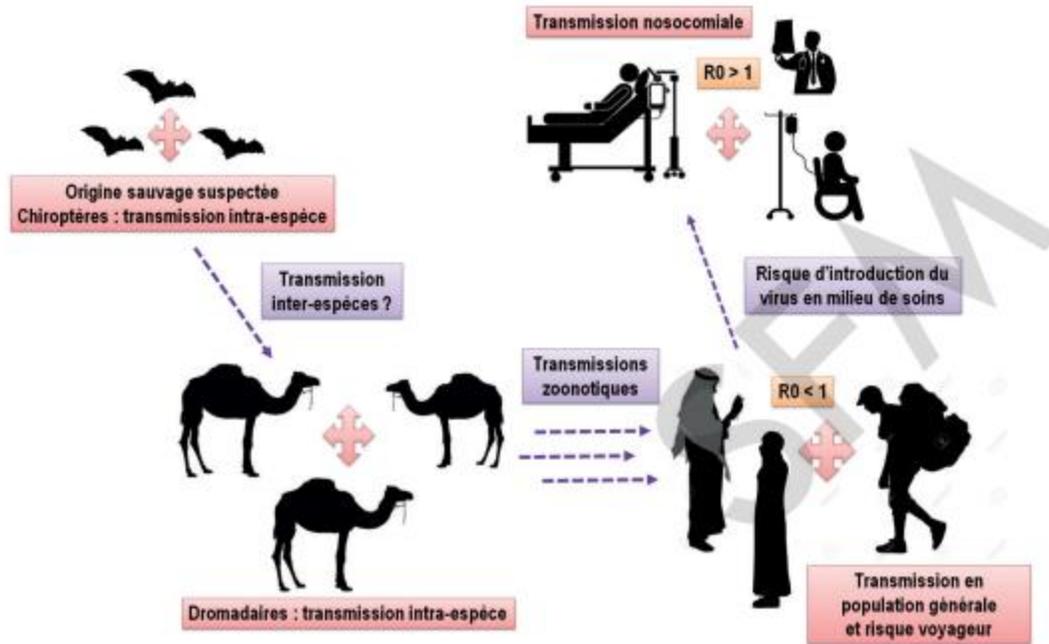


Figure 6: Transmission du SARS -CoV-2

(47)

Dans les milieux de soins, le risque de transmission peut être observé lors d'un simple contact avec un cas vivant ou mort sans équipement de protection pendant le transport/transfert, d'un examen, de soins ou d'un prélèvement, ou encore manque de désinfection des matériels et équipements médicaux.

3.1.7. Période d'incubation

Cela correspond à l'intervalle entre la date d'un premier contact potentiel avec un patient suspecté ou confirmé de COVID-19 et la date d'apparition des signes cliniques. La période d'incubation varie de deux à quatorze jours (la médiane se situant à cinq jours) selon l'OMS (36). La phase contagieuse s'élève à 8 jours en moyenne et commence environ 2 jours avant le début des symptômes (36). Cette notion s'avère importante pour déterminer la durée d'isolement afin de contrôler la propagation de l'infection.

3.1.8. Symptomatologie

➤ Symptômes

Les symptômes de la COVID-19 peuvent varier d'une personne à une autre, en fonction du groupe d'âge, également selon le variant de la COVID-19. Ces symptômes ne sont pas spécifiques, elles peuvent aller de l'absence de symptômes (asymptomatique) à une pneumonie grave et au décès (48). Environ 14 % des patients manifestent des signes cliniques, les symptômes les plus courants sont entre autre : la fièvre, la toux, la dyspnée, l'expectoration, les maux de tête et la myalgie ou la fatigue (25) ; et les symptômes atypiques qui sont : l'hémoptysie, la diarrhée, l'essoufflement ou difficultés respiratoires, frissons ou tremblements répétés accompagnés de frissons, douleurs musculaires, le mal de gorge, la perte de l'odorat ou du goût nouvellement apparue, nausées ou vomissements (49). Les symptômes apparaissent généralement 2 à 14 jours environ après l'infection, le plus souvent dans un délai de 4 à 5 jours avec un large spectre de gravité clinique variable : bénin (81 %), grave (14 %) et critique (5 %) (25). Présentement du fait des différents schémas de vaccination, la majorité des patients infectés par le SARS-CoV-2 ne nécessitent pas d'hospitalisation. Mais ils restent des individus potentiellement infectieux qui doivent être identifiés et confinés afin de réduire la transmission.

➤ Facteurs de risques (58)

Selon plusieurs études, les personnes les plus à risque des cas graves et de décès ont en général :

- un âge supérieur à 65 ans ;
- une affection cardiovasculaire (hypertension artérielle compliquée, antécédent d'accident vasculaire cérébral, antécédent de chirurgie cardiaque, insuffisance cardiaque, antécédents de coronaropathie) ;
- les complications du diabète ;
- les pathologies rénales ;
- les pathologies neurologiques (maladies du motoneurone, myasthénie grave, sclérose en plaques, maladie de Parkinson, paralysie cérébrale, quadriplégie ou hémiplégie, tumeur maligne primitive cérébrale, maladie cérébelleuse progressive) ;
- une obésité avec indice de masse corporelle (IMC) ≥ 30 ;
- une immunodépression ;
- un syndrome drépanocytaire majeur ou antécédent de splénectomie ;

- des affections pulmonaires chroniques susceptibles de décompenser lors d'une infection virale, (notamment : broncho pneumopathie obstructive, insuffisance respiratoire, asthme sévère, fibrose pulmonaire, syndrome d'apnées du sommeil ;
- un cancer ou hémopathie maligne (50).

3.2. Diagnostic de la COVID-19

Le diagnostic du COVID-19 se fait suivant plusieurs étapes comme indiqué ci-après :

3.2.1. Méthodes de diagnostic

De nombreux tests ou méthodes sont disponibles pour faire le diagnostic de la COVID-19 : les tests de biologie moléculaire, les tests immunologiques, les tests antigéniques, etc. A part la radiographie/imagerie médicale, toutes ces méthodes nécessitent un prélèvement. A ce niveau, la nature du prélèvement peut être nasopharyngée et/ou oropharyngée ou même sanguine. Pour la réalisation du prélèvement, il est nécessaire de respecter le port des équipements individuels de protection (Voir annexe).

➤ Prélèvement nasopharyngé et oropharyngé

Le prélèvement nasopharyngé et celui oropharyngé constituent aujourd'hui une référence pour réaliser un test virologique (51)



Figure 7: Techniques de prélèvement nasopharyngé (A) et prélèvement oropharyngé (B) d'un cas suspect de COVID-19

(52)

➤ **Prélèvement sanguin**

La prise du sang consiste à faire le test sérologique pour rechercher la présence d'anticorps dirigés contre le virus de SARS-CoV-2 (53).



Figure 8: Exemple du prélèvement sanguin sur le tube sec pour la recherche des anticorps spécifiques du SARS-CoV-2 -COV-2 (53)

3.2.2. Techniques de Biologie Moléculaire

3.2.2.1. Réaction en chaîne de la polymérisation en temps réel (RT-PCR)

La RT-PCR est le test de référence pour le diagnostic du COVID-19. C'est la méthode la plus sensible qui permet d'amplifier l'ARN du virus dans un échantillon donné (54). L'ARN est tout d'abord rétro transcrit grâce à une enzyme appelée la *transcriptase inverse*, qui permet la synthèse de l'ADN complémentaire (ADNc) à partir de ARN viral. Cette transcriptase inverse ou rétrotranscriptase (en anglais reverse transcriptase ou encore RT) est utilisée par les rétrovirus et les rétrotransposons qui transcrivent l'information génétique des virus de l'ARN en ADN.

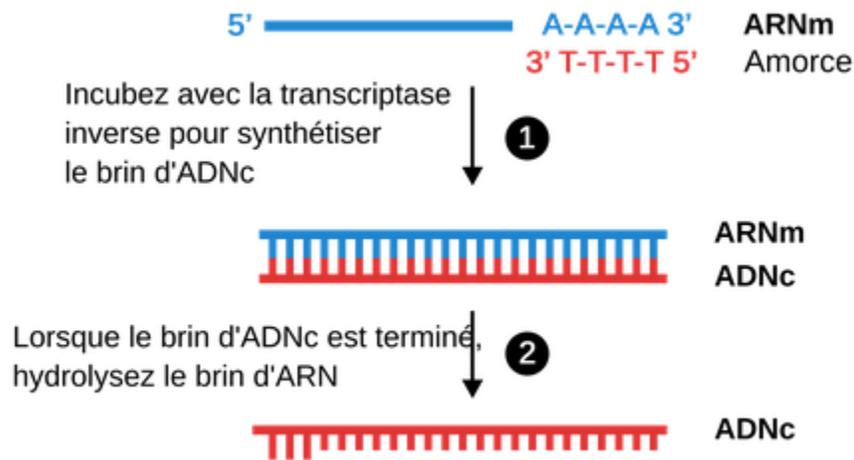


Figure 9: Principe de la Transcription inverse

(55).

La PCR elle-même se déroule en trois grandes étapes :

➤ **Dénaturation de l'ADN**

A cette étape, la rupture des liaisons hydrogènes entre les bases nucléiques provoqueront la séparation des deux brins d'ADN à une température très élevée.

➤ **Hybridation des amorces**

Lors de l'hybridation, il y a une baisse de température et les amorces viennent se coller sur chaque brin ADN complémentaire dans un sens (de 5' vers 3') et un antisens (de 3' vers 5') (56).

➤ **Elongation**

Polymérase se fixe sur l'extrémité 3' des amorces et synthétise un brin d'ADN complémentaire néoformé.

L'amplification se fait grâce à une enzyme, la *Taq* polymérase, capable de synthétiser de l'ADN à partir des nucléotides présents dans la réaction en utilisant les produits de chaque étape de synthèse.

Une sonde couplée à un fluorophore permet la détection du virus. L'amplification obtenue est exponentielle, et à partir d'une molécule d'ADN, il est possible d'obtenir un milliard de copies de cette même molécule.

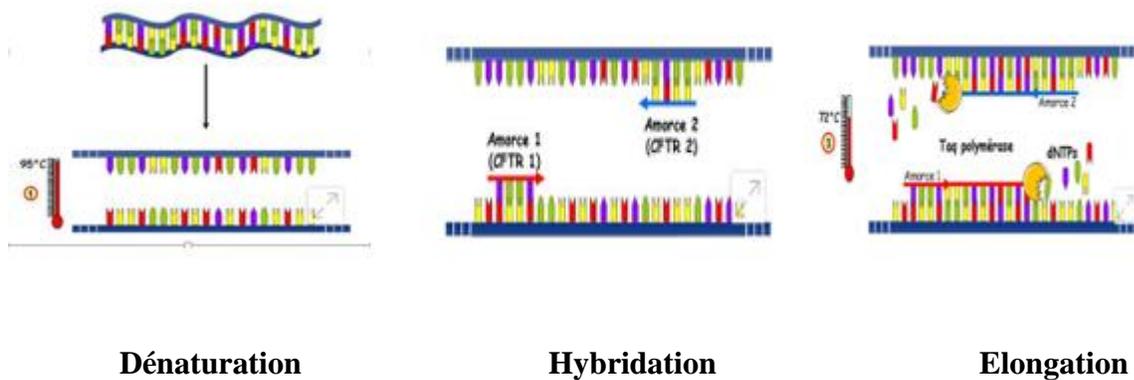


Figure 10: Différentes étapes de la PCR

(56).

3.2.2.2. Xpert® Xpress SARS-CoV-2

Le dépistage du SARS-CoV-2 est important pour le suivi et le traitement épidémiologique d'un patient (57). En effet, le test Xpert® Xpress SARS-CoV-2 permet une détection rapide du matériel génétique du SRAS-CoV-2 dans un échantillon biologique (nasopharyngé ou oropharyngé).

➤ **Principe du test Xpert® Xpress SARS-CoV-2**

- PCR en temps réel (amplification et détection en même temps) ;
- Pas d'interface mouillée entre l'outil et la cartouche pour éliminer les restes ;
- Contrôle interne complet du système des réactifs – pas de contrôle positif ou négatif externe ;
- Lyse ultrasonique intégrée de cellules pour la libération de l'ADN ;
- Analyse automatisée des données et interprétation de résultats.

➤ **Procédure de détection et amplification du test Xpert® Xpress SARS-CoV-2**

Le test Xpert® Xpress SARS-CoV-2 contient les réactifs utilisés pour la détection de l'ARN du SARS-CoV-2. Un contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) et un contrôle de vérification des sondes (CVS) sont également inclus dans la cartouche utilisée sur l'instrument GeneXpert. Le CTE permet de contrôler le traitement adéquat de l'échantillon et de surveiller la présence d'inhibiteurs potentiels lors de la réaction RT-PCR.

Le CTE garantit aussi que les conditions de la réaction RT-PCR (température et durée) sont appropriées pour la réaction d'amplification et que les réactifs RT-PCR sont fonctionnels. Le CVS vérifie la réhydratation des réactifs, le remplissage des tubes de PCR, la présence de tous les réactifs dans la cartouche, ainsi que l'intégrité de la sonde et la stabilité du colorant.

À l'aide de la pipette de transfert fournie, l'échantillon est transféré dans la chambre à échantillon de la cartouche Xpert® Xpress SARS-CoV-2. La cartouche GeneXpert est chargée sur la plateforme du système GeneXpert, qui effectue le traitement des échantillons et la RT-PCR en temps réel pour la détection de l'ARN viral de façon automatisée et sans intervention manuelle.



Figure 11: Equipement du test de Xpert® Xpress SARS-CoV-2

➤ **Interprétation**

- Un résultat peut être positif lorsqu'en plus de la présence du courbe de contrôle positif, il y a l'amplification au niveau du gène ciblé (gène E et N) du SARS-CoV-2 (**voir figure 13**) ;
- Un résultat peut être négatif lorsqu'en plus de la présence du courbe de contrôle positif, si tous les gènes ciblés (gène E et N) sont linéaires (**voir figure 12**).

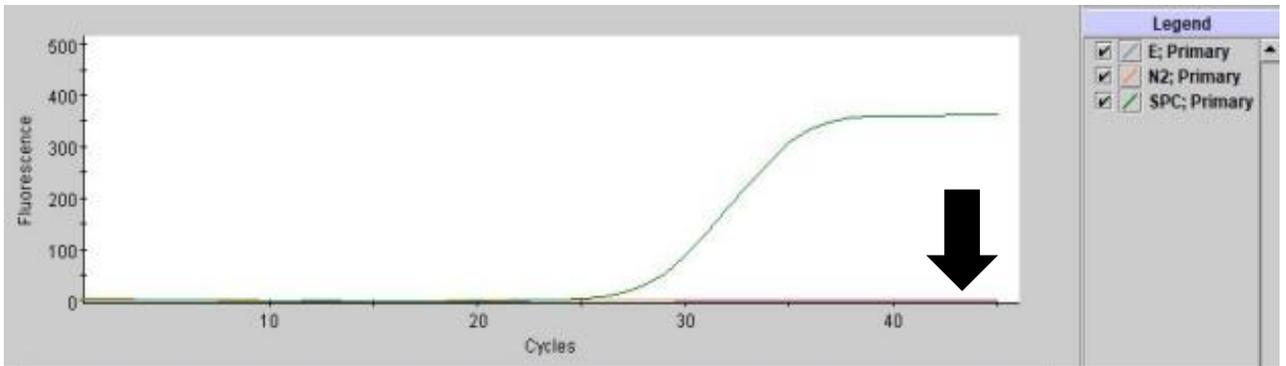


Figure 12: Résultat d'un patient négatif

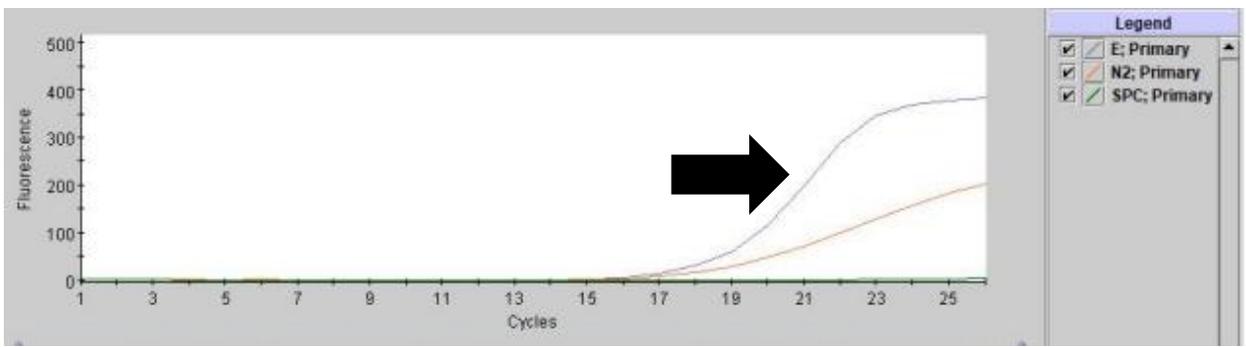


Figure 13 : Résultat d'un patient positif

3.2.3. Tests sérologiques ou immunologiques

3.2.3.1. Tests de diagnostic rapide

Ces tests permettent une détection qualitative des IgG et/ou des IgM dans le sérum, le sang total ou le plasma humains en 10 à 15 minutes environ (58). Il consiste à fixer des anticorps anti-IgG et IgM humaines sur la surface de la cassette et de coupler un antigène du virus avec des particules d'or colloïdal. Si l'échantillon du patient contient des anticorps anti-SARS-CoV-2 alors ces anticorps se fixeront à l'antigène présent dans la zone de conjugaison de la cassette. Le complexe ainsi formé migrera jusqu'au anti-IgG et/ou IgM humaines fixés sur la membrane. On verra alors apparaître une bande colorée (voir les différents résultats possibles plus bas) (59).

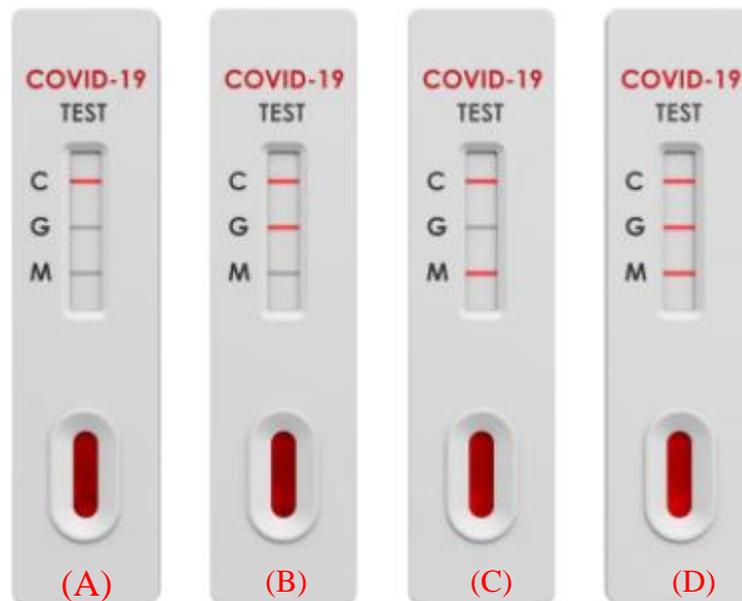


Figure 14: Exemple des résultats du test rapide antigénique de COVID-19

(59).

C : bande du contrôle de Test

M : bande du contrôle d'IgM

G : bande du contrôle d'IgG

Pour être validé, ce test doit présenter une ligne positive pour le contrôle (C)

Tableau I: Résultat et interprétation du test rapide sérologique du SARS-CoV-2

(60)

Résultats	Interprétation
IgM+ / IgG+	Infection récente au SARS-CoV-2
IgM+ / IgG-	Infection récente au SARS-CoV-2
IgM- / IgG+	Infection antérieure au SARS-CoV2
IgM- / IgG-	Pas d'infection ou pas d'anticorps détectables Pendant au début de l'infection

3.2.3.2. Les tests ELISA

C'est un test sérologique basé sur le principe de l'immuno-Enzymologie. Il permet de rechercher dans le sang la présence des anticorps dirigés contre le virus SARS-CoV-2 responsable de l'épidémie de COVID-19. Ces tests permettent la détection (séparément ou simultanément) des différents types d'immunoglobulines : les IgG, et les IgM. Lorsqu'elles sont détectées séparément, les immunoglobulines peuvent communiquer des informations sur l'historique de l'infection. En effet, la détection d'IgM avec ou sans IgG indique une infection récente ou en cours, alors que la détection des IgG seules indique une infection passée. Les IgG apparaissant pendant l'infection et restant détectables après (55).

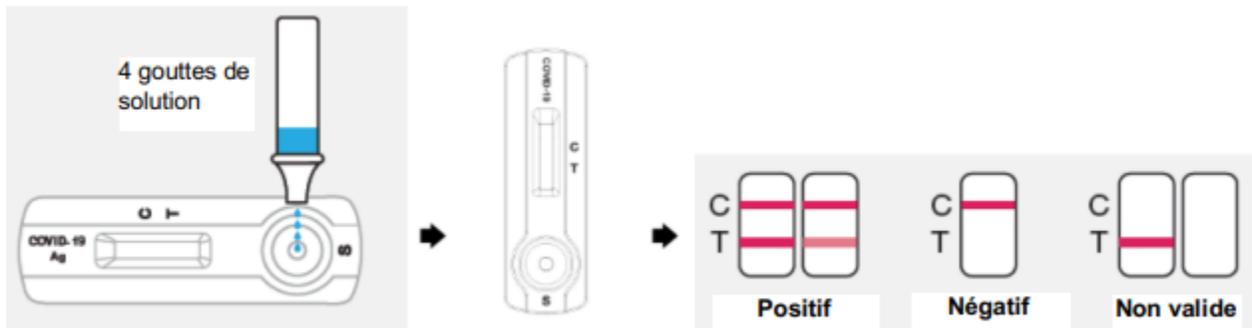
➤ Principe du test ELISA pour les maladies infectieuses

La méthode ELISA est une technique immuno-enzymatique qui permet de visualiser, à partir d'un échantillon biologique, les réactions entre un antigène (corps considéré comme étranger par l'organisme vivant) et un anticorps à l'aide d'une réaction colorée produite par un marqueur enzymatique (généralement la phosphatase alcaline et la peroxydase préalablement fixé à l'anticorps).

La réaction colorée permet de confirmer l'identification de la bactérie isolée ou la présence du virus recherché et l'intensité de la couleur donne une indication de la quantité d'antigènes ou d'anticorps dans l'échantillon donné (55).

3.2.4. Tests antigéniques

Les tests de diagnostic rapide (TDR) antigéniques (Ag) détectent les antigènes spécifiques (nucléoprotéine) du SARS-CoV-2 s'ils sont présents en concentrations suffisantes dans les échantillons, y compris les écouvillons nasopharyngées, les écouvillons oropharyngées, les expectorations et toute autre sécrétion respiratoire obtenue d'un individu infecté (59). La plupart des TDR Ag sont connus pour donner des résultats de test en quelques minutes allant de 15 à 30 minutes.



C (control) : signifier que le test est valable

T(test) : signifier que le test est positif

Figure 15 : Exemple des résultats du test rapide antigénique de SARS-CoV-2

Tableau II : Résultat et interprétation du test rapide antigénique

Résultats	Interprétation
Positif	La présence de deux lignes, une ligne de contrôle © et une ligne de test (T), dans la fenêtre de lecture des résultats indiquent un résultat positif.
Négatif	La présence de la seule ligne de control©(C) dans la fenêtre de lecture des résultats indiquent un résultat négatif.
Non valide	Si la ligne de control le (C) n'apparaît pas dans la fenêtre de lecture des résultats après le test, le résultat est considéré comme non valide

3.2.5. Technologies d'imagerie

La radiographie pulmonaire ou encore la tomodensitométrie (TDM) sont des outils importants pour le diagnostic de la COVID-19 dans la pratique clinique. La majorité des cas de la COVID-19 présentent des caractéristiques similaires sur les images radiographiques du thorax, notamment la distribution bilatérale d'ombres disparates et l'opacité du verre moulu (36). L'intelligence artificielle (IA) peut interpréter avec précision les images radiographiques du thorax des cas suspects de COVID-19 en 20 secondes (61). Le taux de précision des résultats d'analyse atteint 97%, ce qui améliore considérablement l'efficacité du diagnostic (61).

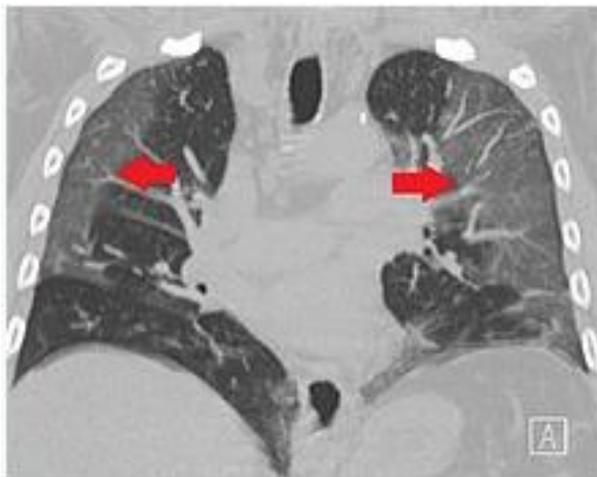


Figure 16: Imagerie pulmonaire d'un patient affecté par la COVID-19 (61)

3.2.6. Classification des cas confirmés de la COVID-19 dans le Diagnostic

La classification des infections au syndrome respiratoire aigu sévère coronavirus 2 dépend du stade de la maladie selon l'OMS (62).

- **Cas de COVID-19 bénigne :** C'est un cas simple, leur signe clinique est le rhume sans douleur ni fièvre

- **Cas de COVID-19 modéré :** C'est un cas moyennement grave, et lorsqu'il présente des symptômes comme suite :

Fièvre, la toux, des frissons, des douleurs musculaires, écoulement nasal, des maux de tête, des éternuements et des maux de gorge etc.

- **Cas sévère de COVID-19**

C'est un cas très grave ou un cas critique. Les caractéristiques des signes cliniques suivants :

- Polypnée (fréquence respiratoire > 30/min)
- Difficulté à respirer
- Signes d'altération de la conscience, confusion, somnolence
- Signes de déshydratation
- Présence de comorbidités (Insuffisance respiratoire, insuffisance cardiaque, Asthme, Insuffisance rénale, infection à VIH, Hépatite virale B et C, diabète, obésité...)

- **Asymptomatique :**

Les cas asymptomatiques de COVID-19 sont des personnes infectées par le SARS-CoV-2 mais qui ne présentent pas de symptômes de COVID-19. Cependant leur traitement est basé sur l'élimination du virus de SRAS-CoV-2 afin d'éviter la propagation (63).

3.3. Traitement, prévention et prise en charge

3.3.1. Traitement de la maladie à COVID-19

Le traitement de l'infection par le SARS-CoV-2 dépend du stade de la maladie selon l'OMS (62). Il s'agit d'un traitement symptomatique (il vise à soulager les symptômes à l'aide des médicaments) et un traitement de pneumonie (qui est basé sur la prise des antibiotiques en cas de co-infection bactérienne) (64). Il n'existe pas de traitement spécifique pour le nouveau coronavirus, mais on utilise certains antiviraux.

Les antiviraux sont des médicaments utilisés pour la prévention et le traitement précoce de la grippe en réduisant la capacité du virus à se multiplier comme zanamivir) qui ont démontré une certaine efficacité dans des études récentes.

Cependant, il existe de nombreux traitements servant au contrôle de ses symptômes, de sorte que l'assistance sanitaire améliore le pronostic. Le Mali, au regard de la pratique de plusieurs pays de la sous-région et des recommandations de l'Organisation Ouest Africaine de la santé (OOAS) a adopté l'utilisation de Chloroquine et Azithromycine dans le protocole de traitement pour la prise en charge des cas de COVID-19 dans les centres hospitaliers du pays (47).

➤ **Chloroquine (CQ) et hydroxychloroquine (HCQ) :**

Les spécialistes ont proposé la chloroquine (CQ) et l'hydroxychloroquine (HCQ) dans le traitement et la prévention de la maladie et actuellement ils sont identifiés comme des agents thérapeutiques possibles pour la lutte contre le COVID-19. Ils sont moins risqués chez un patient en bonne santé, que de patients âgés avec des problèmes de santé sous-jacents (65). Ils peuvent cependant provoquer des effets secondaires tels que cardiovasculaires, une hypotension etc (66). La pandémie actuelle, malheureusement a entraîné une grande proportion de patients âgés hospitalisés qui ont un problème de santé sous-jacent ce qui donne lieu à des facteurs de confusion lors de l'utilisation de CQ ou HCQ.

➤ **Azithromycine :**

L'azithromycine est un antibiotique utilisé pour traiter des infections des voies respiratoires (nez, gorge, bronches, poumons), de la bouche, des oreilles, les infections cutanées et les infections des organes génitaux (67). Il est aussi utilisé dans le traitement des personnes infectées par le coronavirus. Bien qu'il ait montré de bons résultats pour réduire la charge virale, certaines études cliniques récentes n'ont pas prouvé cette efficacité (67). L'azithromycine peut causer des effets secondaires d'intensité légère à modérée, et entraîner des désordres dans la rythmicité cardiaque (49).

Tableau III: Protocole de prise en charge des patients adultes symptomatiques de COVID-19 au Centre Hospitalier Universitaire du Point « G » (Mali)

Médicaments	Dosage	Quantité/jour	Durée de prise
Phosphate de chloroquine	200mg	2 comprimés par jour	10 jours
Azithromycine	500mg	2 comprimés le premier jour puis 1 comprimé par jour	5 jours
Paracétamol	1000mg	1 comprimé deux fois par jour	Jusqu'à la guérison

3.3.2. Prévention de la maladie à COVID-19

Les principes pour la prévention de la transmission de la COVID-19 se divisent en trois catégories :

- Les mesures de protection personnelle
- Les mesures de protection de l'environnement et
- Les mesures de distanciation physique (30).

➤ Mesures de protection personnelle

Pour prévenir la transmission de la COVID-19, les mesures d'hygiène de base sont recommandées. La technique la plus efficace consiste à utiliser un désinfectant, à se laver les mains avec de l'eau et du savon pendant au moins 20 secondes, et à éviter toute interaction avec le visage (68).

➤ **Mesures de protection de l'environnement**

Quant à l'environnement, il est important de nettoyer et de désinfecter fréquemment tous les objets et toutes les surfaces qui risquent d'être contaminés, comme les poignées de porte, la robinetterie, les téléphones cellulaires et les claviers et souris d'ordinateurs (69).

➤ **Mesures de distanciation physique**

La distanciation physique consiste à limiter le nombre de contacts étroits auprès d'autres personnes. Il est nécessaire d'éviter tous les déplacements non essentiels dans la communauté et d'éviter de se rassembler, peu importe l'occasion (69). Lors des déplacements essentiels, il est important de maintenir une distance d'au moins un mètre par rapport aux autres.

3.4. Autre type de prévention : La vaccination

La pandémie de COVID-19 a gravement touché des vies humaines. La vaccination est l'un des moyens les plus efficaces de se protéger contre la COVID-19 (70). Plusieurs déséquilibres entre l'effort scientifique à travers le monde, pour développer des vaccins sûrs et efficaces. Le COVAX est l'axe de travail vaccins du dispositif accélérateur (ACT). Son objectif est d'accélérer la mise au point et la fabrication de vaccins contre la COVID-19 et d'en assurer un accès juste et équitable, à l'échelle mondiale (71). En fin octobre 2020, selon la liste de l'OMS, près de 200 candidats vaccins contre le SRAS-CoV2 étaient en cours de développement, faisant appel à huit plateformes technologiques différentes et leur exemple : vaccins vivants atténués (les vaccins contre la rougeole) et vaccins inactivés (vaccine valneva), vaccins à base de sous-unités protéiques (SCB-2019), vaccins à partir du matériel génétique viral (génétique), vaccins par vecteur viral répliatif ou non répliatif (Johnson), vaccins à ARN (Covifenz®) et vaccin nanoparticules permettre à l'ARN messager, d'entrer dans les cellules afin d'y être lu et que notre corps puisse assurer la production de protéines destinées à lutter contre le virus (72).

4. METHODOLOGIE

4.1. Cadre d'étude

Le Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) est une initiative de recherche biomédicale entre les instituts nationaux de la santé aux Etats Unis – d'Amérique (NIH-NIAID) et l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, Mali (USTTB). Il est doté d'un volet laboratoire et d'un volet clinique. La mission actuelle est d'améliorer la qualité des soins de santé à l'échelle nationale, régionale et mondiale en menant des activités de recherches pointues et durables sur la tuberculose, le paludisme, le VIH/SIDA et les fièvres hémorragiques (Ebola, Lassa, Dengue etc.), les maladies émergentes ou re-émergentes afin d'améliorer la santé de la communauté malienne et internationale. Ce centre possède plusieurs unités de laboratoire :

- un laboratoire P-3 de Mycobactériologie et des Fièvres hémorragiques,
- un laboratoire Core Immunologie,
- un laboratoire de biologie moléculaire et de génomique,
- un laboratoire Clinique,
- un laboratoire d'épidémiologie Moléculaire du VIH.

➤ **Laboratoire d'immunologie (Core)**

Ce laboratoire d'Immunologie est un laboratoire de dernière génération qui soutient des études complexes visant à mieux comprendre le système immunitaire de l'homme et la pathogénie de la maladie. Ce laboratoire dispose d'équipements tels que les cytomètres dont le principe est basé sur le tri-cellulaire (caractérisation individuelle, quantitative et qualitative) des particules en suspension dans un liquide, le Cell dyn ruby (pour les paramètres hématologiques) etc.

➤ **Laboratoire de Mycobactériologie et des fièvres hémorragiques**

C'est un laboratoire de Biosécurité de niveau de sécurité 3 permettant la manipulation de pathogènes hautement dangereux. Il est certifié annuellement par des structures habilitées pour les normes internationales de sécurité microbiologiques depuis 2006. C'est un des premiers laboratoires de niveaux de sécurité 3 dans la sous-région francophone. Il a conduit le diagnostic des suspects de la maladie à virus Ebola (MVE) du Mali et certains pays tels que la Guinée. Il a joué un rôle clé dans la riposte contre l'épidémie ouest africaine (73) de la maladie à virus Ebola et conduit actuellement le diagnostic des patients suspect de COVID-19 au Mali.

➤ **Laboratoire de biologie moléculaire et de génomique**

Le laboratoire de génomique est un laboratoire de l'UCRC à accès limité doté d'équipements de biologie moléculaire de dernière génération. Des thermocycleurs pour la PCR classique et PCR en temps réel pour la préparation des bibliothèques avant le séquençage. Il procède des séquenceurs pour le "Sanger et le NGS" afin de séquencer l'ADN complémentaire et du génome complet.

➤ **Laboratoire d'épidémiologie moléculaire du VIH**

Il s'occupe essentiellement du suivi de la charge virale des patients infectés par le VIH/SIDA sous traitement antirétroviral (ARV). Il conduit aussi le génotypage des souches de VIH en vue de déterminer s'ils sont résistants aux ARV.

UCRC travaille en collaboration avec tous les Centres de Santé de Référence (CS Réf) des six communes du District de Bamako, l'ARCAD /SIDA-CESAC et le service de pneumo-phthisiologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) du Point G pour le recrutement des patients dans les différentes études.

4.1.1. Définitions opérationnelles

➤ **COVID-19** : Coronavirus disease 2019 (en Anglais), Maladie à coronavirus 2019 (en Français) est une maladie infectieuse émergente de type Zoonose virale, causée par le virus responsable du syndrome respiratoire aiguë sévère (SARS-CoV-2).

➤ **Cas contact** : Sujet ayant été en contact direct ou indirect avec un cas suspect, probable ou confirmé pendant la période allant de 2 à 14 jours.

➤ **Cas suspect** : Patient présentant un ou des signes d'infection respiratoire aiguë ou des signes généraux persistants et ayant été en contact avec un sujet contact d'un malade confirmé de COVID-19 dans les 14 jours précédant les signes.

➤ **Cas confirmé** : Sujet chez qui la RT PCR- SARS-CoV-2 est positive quels que soient les symptômes qu'il manifeste ou les tests antigéniques sont aussi suffisant pour confirmer.

➤ **Temps de clairance** : C'est le délai nécessaire pour qu'un patient dépisté positif au COVID-19 obtienne son premier résultat négatif.

➤ **Guérison** : Il s'agit d'un malade de COVID-19 ayant eu deux résultats négatifs successifs, en intervalle de 24h, pendant les tests de contrôles.

➤ **Ct (Cycle de seuil)** : c'est le nombre de cycle de PCR auquel le gène ciblé franchit le seuil de détection.

4.1.2. Lieux d'étude

Les différents prélèvements nous provenaient de huit sites principaux, à savoir :

- l'hôpital du Mali ;
- l'hôpital du Point G ;
- l'hôpital de Kati ;
- l'hôpital dermatologique de Bamako ;
- le Centre de Santé de Référence (CSREF) de Kati ;
- les Centres de Santé de Référence (CSREF) des communes III, IV et VI ;

4.1.3. Type, période d'étude

Nous avons mené une étude de cohorte prospective entre février et août 2021 dans le laboratoire de niveau de sécurité 3 de l'UCRC de l'Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB).

4.1.4. Population d'étude

4.1.4.1. Taille de la population d'étude

Elle est constituée de tous les cas confirmés de SARS-CoV-2 à l'UCRC et qui ont eu deux résultats négatifs successifs pendant leur test de contrôle.

4.1.4.2. Echantillonnage

Les prélèvements oropharyngés et/ou nasopharyngés ont été effectués par des cliniciens dans des centres de dépistage et de prise en charge de COVID-19. Ces prélèvements ont ensuite été acheminés au laboratoire de l'UCRC dans les boîtes sécurisées à triple emballage. Des informations telles que : le nom, âge, sexe, établissement, symptôme, le lien épidémiologique ont également été enregistrées dans une base de données.

4.1.5. Critères d'inclusion

Toutes les personnes dépistées positives au SARS-CoV-2 dans le laboratoire de l'UCRC et qui ont suivi leur contrôle jusqu'à leurs guérisons et ayant acceptées de participer à l'étude ont été incluses.

4.1.6. Critères de non- inclusion

Les critères de non-inclusion étaient :

- les patients ayant refusés de participer à l'étude,
- les patients n'ayant pas pu faire le test de contrôle après avoir été dépistés positifs ;
- les patients n'ayant pas pu avoir deux résultats de PCR négatifs successifs.

4.2. Méthodes au laboratoire

Cette partie a été subdivisée en cinq étapes :

- la réception des échantillons,
- l'inactivation des échantillons,
- l'extraction de l'ARN (matériel génétique),
- l'amplification du matériel génétique pour la RT-PCR,
- l'interprétation des résultats.

4.2.1. Réception des échantillons

A l'arrivée de l'échantillon, le carton de triple emballage a d'abord été nettoyé avec une solution de désinfection (Vesphene) à l'intérieur du laboratoire de niveau 3 de sécurité. La vérification des tubes était obligatoire (chaque tube correspond à un numéro unique et date).

4.2.2. Inactivation des échantillons (avec le kit d'extraction Argene®)

A l'intérieur du laboratoire P3, le virus a été inactivé en ajoutant 140 μL de l'échantillon à 560 μL de AVL et puis vortexé et incubé pendant 10 min. Après l'incubation, 560 μL de l'éthanol ont été ajoutés. La solution finale a été homogénéisée puis envoyée dans le laboratoire de biologie moléculaire P2 pour la suite du test.



Figure 17: Inactivation de l'échantillon dans le laboratoire P-3

4.2.3. Procédure de l'extraction de l'ARN

Les échantillons inactivés ont été transférés dans une colonne constituée d'une membrane de silice et d'un tube de collection. Après 1 min de centrifugation, la membrane de silice capte acide nucléique c'est-à-dire (ARN, s'il est présent) et laisse passer le reste des débits cellulaires dans le tube de collection. Elle est ensuite lavée en ajoutant 600 μL de AW1 (solution de lavage) puis centrifugée. Après un deuxième lavage, l'échantillon sera ensuite centrifugé pour une troisième fois à sec pendant 1 min afin d'enlever toutes les traces d'éthanol. L'ARN est récupéré en ajoutant 60 μL de tampon d'éluion, incubé pendant 1 mn à la température ambiante puis centrifugé pendant 1mn.

4.2.4. Réaction de polymérisation en chaîne en temps réel (RT-PCR)

4.2.4.1. Préparation du Master Mix

A ce niveau nous avons d'abord procédé à la dilution de la solution RT (transcriptase inverse) qui consiste à ajouter 1 μL de la solution RT + 9 μL l'eau. Après, pour chaque échantillon, 15 μL de la solution RO1 a été ajoutée à 0,5 μL de la solution RT préalablement diluée.

4.2.4.2. Préparation de la plaque PCR

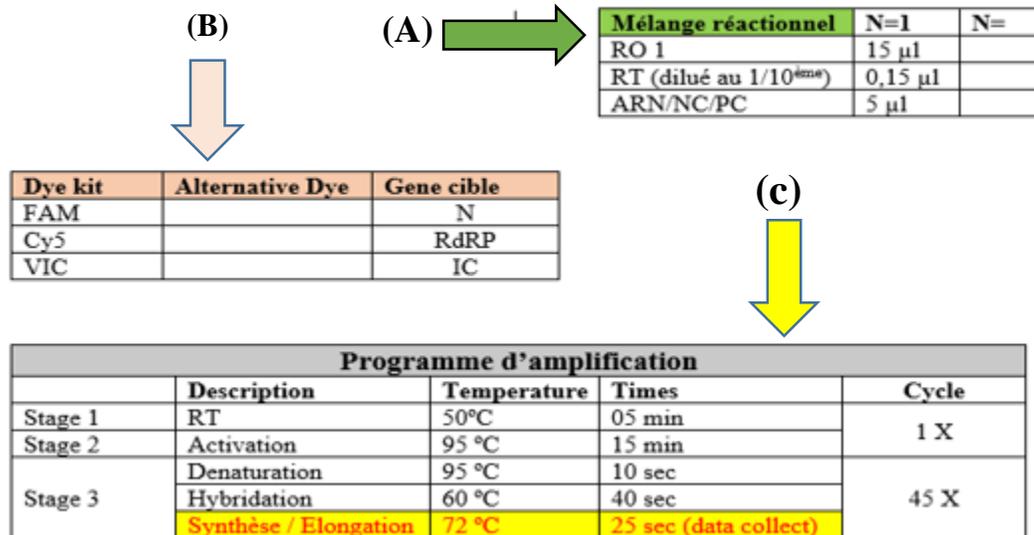
Un volume de 15 μL du mix préparé est reparti dans chaque puits de la plaque et 10 μL de l'échantillon extrait a été ajouté. La plaque a ensuite été recouverte avec une fine plastique puis insérée dans la machine ab7500 Fast Real Time pour entamer la RT-PCR



Figure 18: Insertion de la plaque dans la machine AB7500 Fast pour la détection du virus SRAS-COV-2 dans le laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génomique

Tableau IV: Programme de la machine AB7500 Fast real time

Procédure adoptée: RT-PCR (KIT ARGENE)



4.2.4.3. Amplification et détection

La RT-PCR est une technique qui permet de faire une PCR (réaction par polymérisation en chaîne) à partir d'un échantillon d'ARN. Il a pour but d'amplifier une région d'ADN ou ARN. Ainsi, on pose sur des régions d'intérêt des amorces ou primer (morceaux d'ADN à simple brin) qui délimitent les régions à amplifier.

Différentes étapes seront répétées en cycles plusieurs fois jusqu'à l'obtention de la région d'ADN amplifiée à double brin.

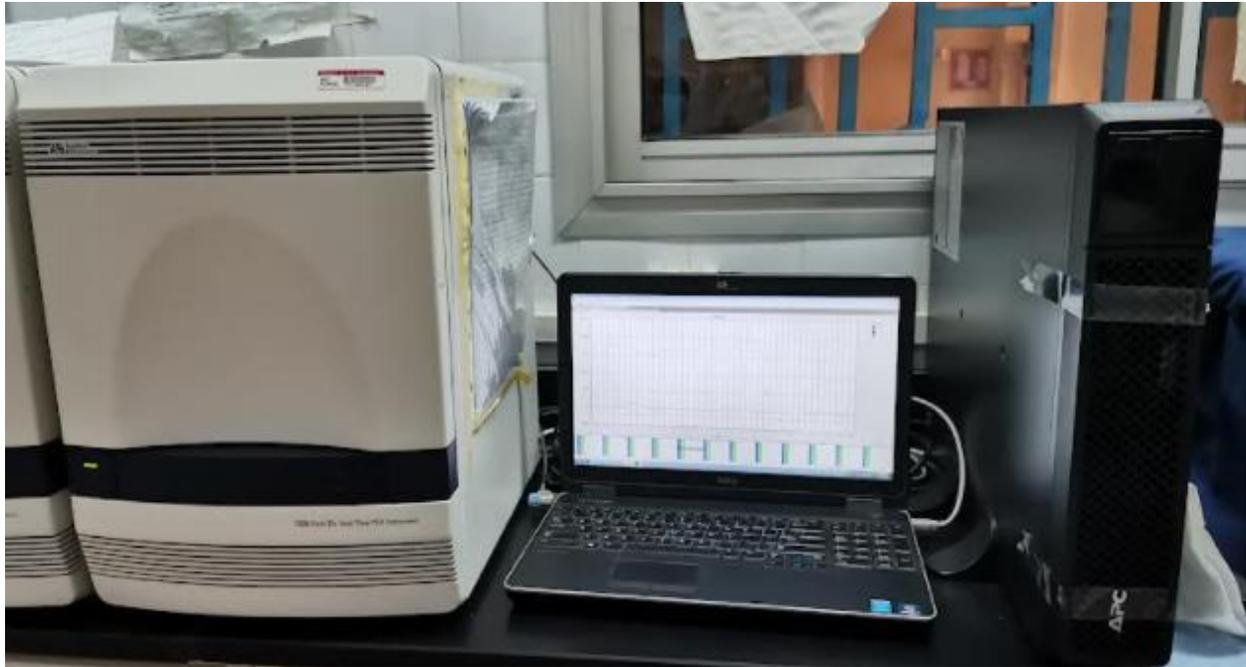


Figure 19 : Machine de PCR en temps réel du laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génomique

4.2.4.4. Résultats et interprétation de la PCR semi quantitative

Les produits d'amplification (amplicons) sont détectables à l'aide de la fluorescence émise par les sondes au moment de l'amplification. L'intensité de cette fluorescence est proportionnelle au nombre d'amplicons. L'ordinateur affiche le numéro d'ordre du cycle (1 et 40) à partir duquel le signal détectable a été obtenu, on parle alors du seuil de détection Ct (cycle threshold). Plus ce seuil est bas, plus la virémie est élevée car il a fallu moins de cycle d'amplification pour détecter un signal.

- Les résultats ont été interprétés comme suit : **Résultats positifs** : puisque le Ct est apparu aux environs du 30^{ème} cycle (Ct= 30).

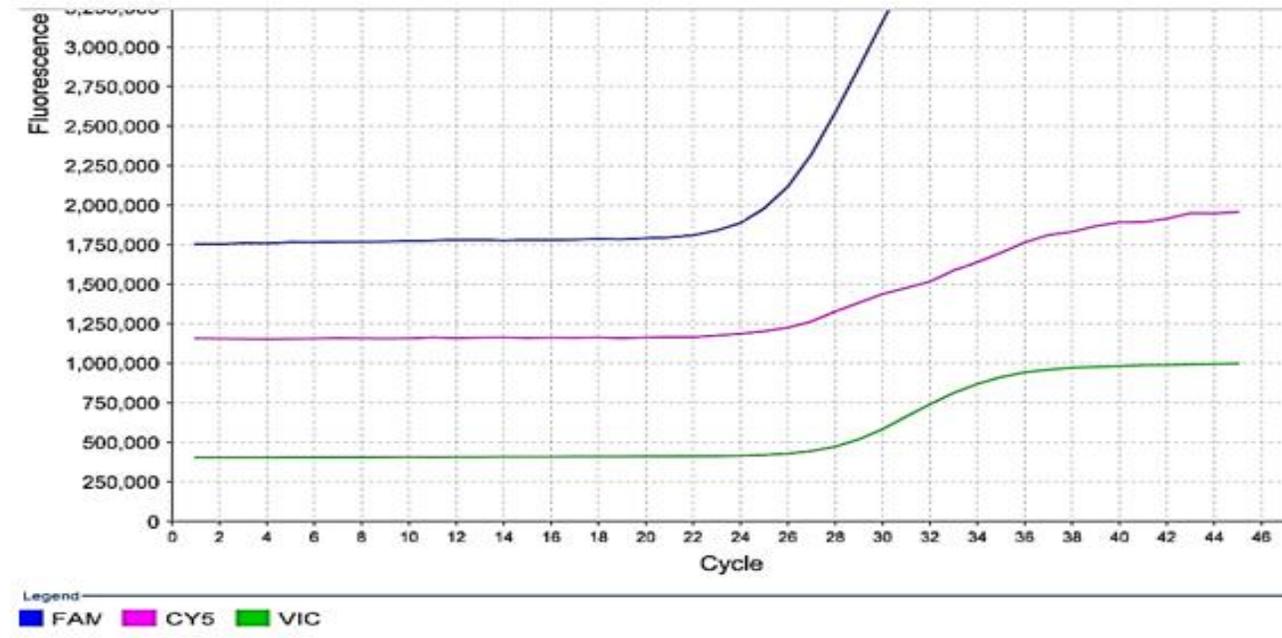


Figure 20 : Exemple de résultat positif au laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génomique

FAM : amplification au niveau du courbe bleu signifie que le virus est présente

CY5 : amplification au niveau du courbe violet signifie que le virus est présente

VIC : amplification au niveau du courbe vert signifie que le test est validé

- **Résultats négatifs** : puisque le Ct est en dessous du seuil de détection tout au long des 46 cycles.

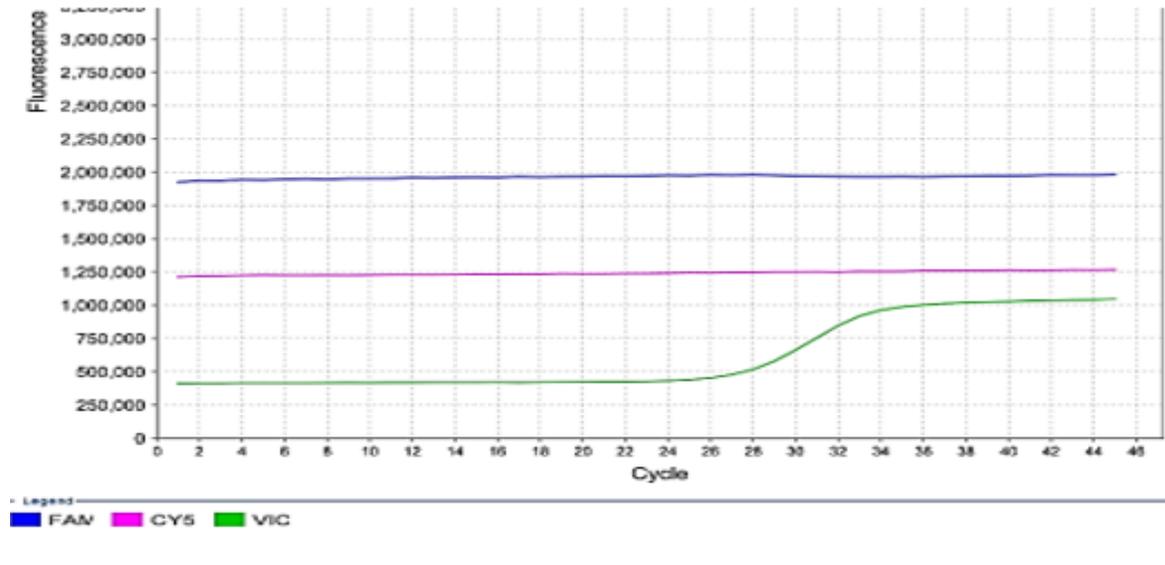


Figure 21 : Exemple de résultat négatif au laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génomique

FAM : la linéarité de courbe bleu signifie que le virus est absent

CY5 : la linéarité de courbe violet signifie que le virus est absent

VIC : amplification au niveau du courbe vert signifie que le test est validé

- **Résultat invalide** : puisque le contrôle positif, le contrôle négatif et les duplicates donnent des résultats discordants.

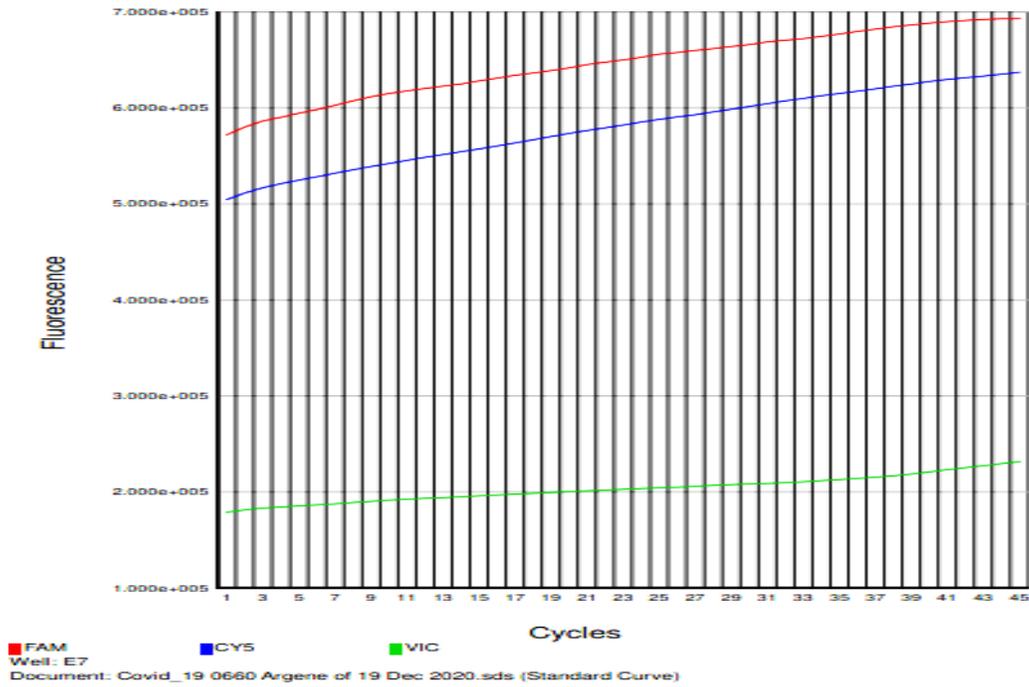


Figure 22 : Exemple de résultat invalide au laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génomique

La courbe verte, violet et bleu sont en discordances. On ne connaît pas si le virus est présent ou pas Il faut faire un autre prélèvement ou de reprendre le test.

4.3. Plan de collecte des données

La collecte des données a été faite dans une base de données du laboratoire P3 de l'UCRC avec accès limité. Les données cliniques et sociodémographiques des patients ont été recueillies sur des questionnaires individuels en papier et transférées sur ordinateur en fichier Excel.

4.4. Analyse des données

Les données recueillies ont été reportées sur fichier Excel (Microcoft excel). En suite les données ont été analysées avec le logiciel Prisme version 9.3.1 *GraphPad Software 2365 Northside Dr. Suite 560, San Diego, CA 92108 USA*. La durée de guérison a été calculée en comptant le nombre de jours écoulés entre le jour de positivité et celui des deux jours de négativation.

Des analyses statistiques ont été ensuite réalisées par le logiciel « *test-t de Student* » pour déterminer les caractéristiques socio-démographiques de notre population d'étude et le temps moyen de clairance virale des patients.

Nous nous sommes basés sur la valeur de « *p* » value pour comparer les paramètres tel que le sexe, l'âge, statut clinique et la valeur du Ct initial. Il y a eu une différence significative lorsque la valeur de « *p* » est inférieure ou égale à 0.050.

4.5. Considérations éthiques

Compte tenu du caractère épidémiologique de la flambée du coronavirus et prenant en compte que l'OMS a déclaré l'état d'urgence sanitaire mondiale pour cette pandémie de la COVID-19, les participants n'ont pas été soumis à la signature du consentement. Ils sont venus volontairement se faire prélever et se faire tester pour la présence au nom du virus de SARS-CoV-2. Ainsi, la soumission aux comités d'éthique institutionnels n'a pas été nécessaire, mais les bonnes pratiques cliniques et de laboratoire ont été strictement suivies et respectées. De notre côté, la confidentialité a été conservée tout au long de l'étude. Les patients et les médecins traitant ont bénéficié des résultats des laboratoires pour guider leur traitement.

4.6. Sécurité Biologique au Laboratoire

Toutes les expériences impliquant la manipulation d'agents pathogènes de la COVID-19 ont été conduites dans le laboratoire de mycobactériologie et des fièvres hémorragiques (BSL-3) de l'UCRC au Mali. Ce BSL-3 est certifié chaque année par le NIAID/NIH et dispose d'équipements de sécurité adéquats et de tout le matériel nécessaire pour mener en toute sécurité les investigations de laboratoire proposées. Tous les personnels du laboratoire portaient des équipements de protection individuelle et ont été déjà formés aux bonnes pratiques cliniques et de laboratoire et à la manipulation du virus de la Covid-19. Les réactifs et les produits jetables utilisés pour les tests, ont été soigneusement placés dans des sacs de biorisques autoclavés dans le BSL-3, puis incinérés par le personnel qualifié de l'UCRC en respectant les mesures barrières de COVID-19 durant le déroulement de l'étude.

5. RESULTATS

❖ Résultats généraux

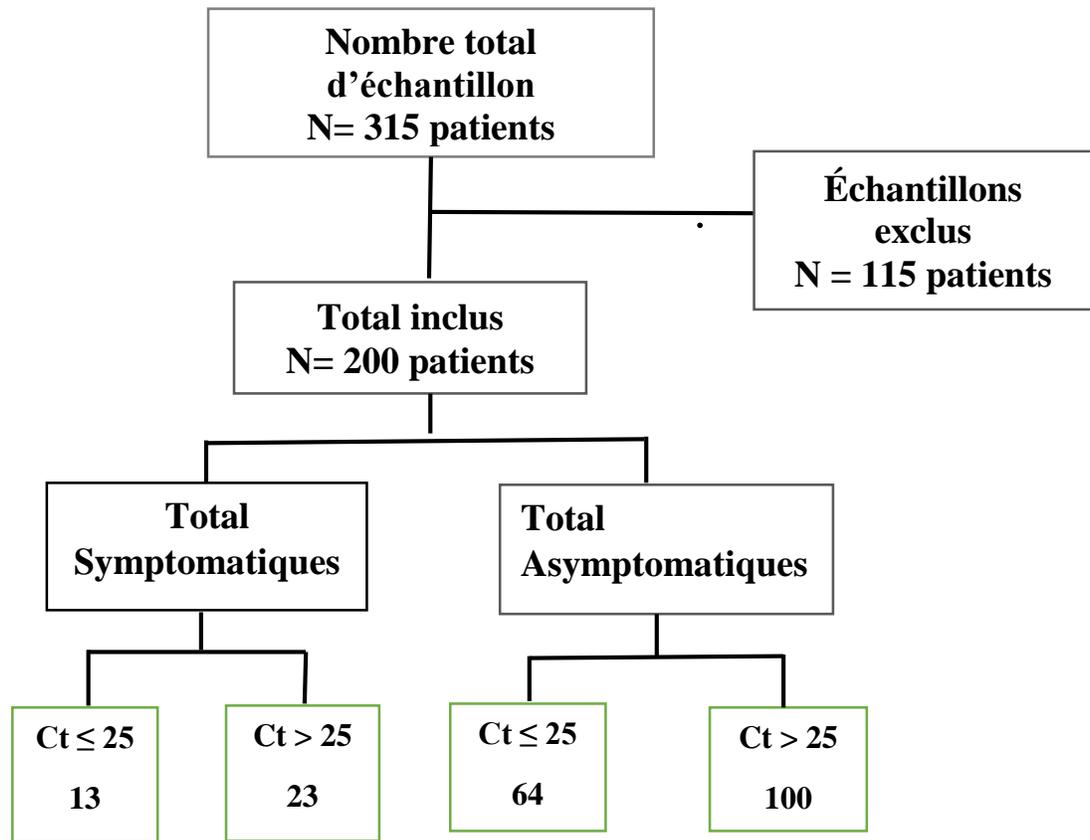


Figure 23: Schéma descriptif de notre étude

Sur 315 patients confirmés positifs de COVID-19 par la méthode RT-PCR au laboratoire UCRC, nous avons retenu 200 patients qui répondaient à nos critères d'inclusion. Nous avons divisé les 200 patients en deux groupes :

- le premier groupe concernait les patients symptomatiques (36 patients),
- le second groupe concernait les patients asymptomatiques avec 164 patients. Dans le groupe des patients symptomatiques, 23 avaient des Ct initial ($Ct > 25$) et 13 avaient des Ct initial ($Ct \leq 25$).

Dans le groupe des patients asymptomatiques, 100 avaient des Ct initial ($Ct > 25$) et 64 avaient des Ct initial ($Ct \leq 25$).

5.1. Caractéristiques sociodémographiques des patients

Tableau V: Répartition des patients en fonction des caractéristiques sociodémographiques

Caractéristiques	Nombre N = 200	Pourcentage (%)
Sexe		
Masculin	127	63,5
Feminin	73	36,5
Âge moyen (ans)		
	39,52±16,58	
Tranche d'âge		
0-30 ans	68	34
31-60 ans	104	52
61 ans- et plus	28	14
Statut clinique		
Symptomatiques	36	18
Asymptomatique	164	82

La tranche d'âge de 31-60 était la plus représentée avec 52% et une moyenne d'âge de 39,52 ±16,58 ans. Le sex-ratio (H/F) était de 1,73. Les patients asymptomatiques étaient les plus représentés avec 82%.

5.2. Répartition des patients en fonction de la provenance

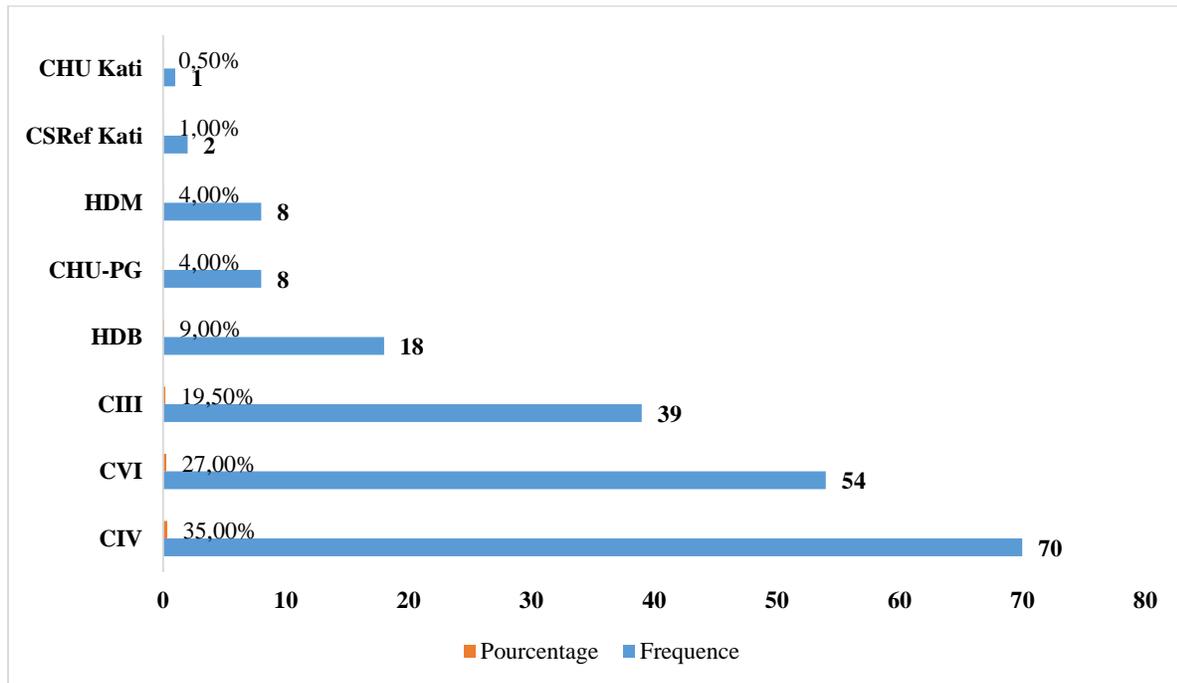


Figure 24 : Répartition des patients en fonction de la provenance

Le centre de santé de référence de la commune 4 (C IV) était la plus représentée avec 70 patients soit 35%.

Tableau VI: Répartition des patients en fonction du temps de clairance

Jour de négativation	J7 (1^{er}contrôle)	J10 (2^{ème} contrôle)	J13 (3^{ème} contrôle)	J16 (4^{ème} contrôle)	J19 (5^{ème} contrôle)	J22 (6^{ème} contrôle)	J25 (7^{ème} contrôle)
Nombre des patients par contrôle = N	200	149	101	73	51	30	12
Nombre des patients négatifs n(%)	51(25,5)	48 (32,2)	28 (27,7)	22 (30,1)	21 (41,2)	18 (60)	12 (100)

Le temps moyen global de clairance était de 13 ± 4 jours. Sur 200 patients, 51 et 48 ont été déclarés négatifs respectivement au 7^{-ème} jour (1^{er} contrôle) et 2^{ème} contrôle. Ce qui signifie que près de la moitié des patients 99 (49,55) n'ont pas dépassé 10 jours d'infectiosité.

Résultats spécifiques

5.2.1. Détermination du temps moyen de clairance en fonction du sexe

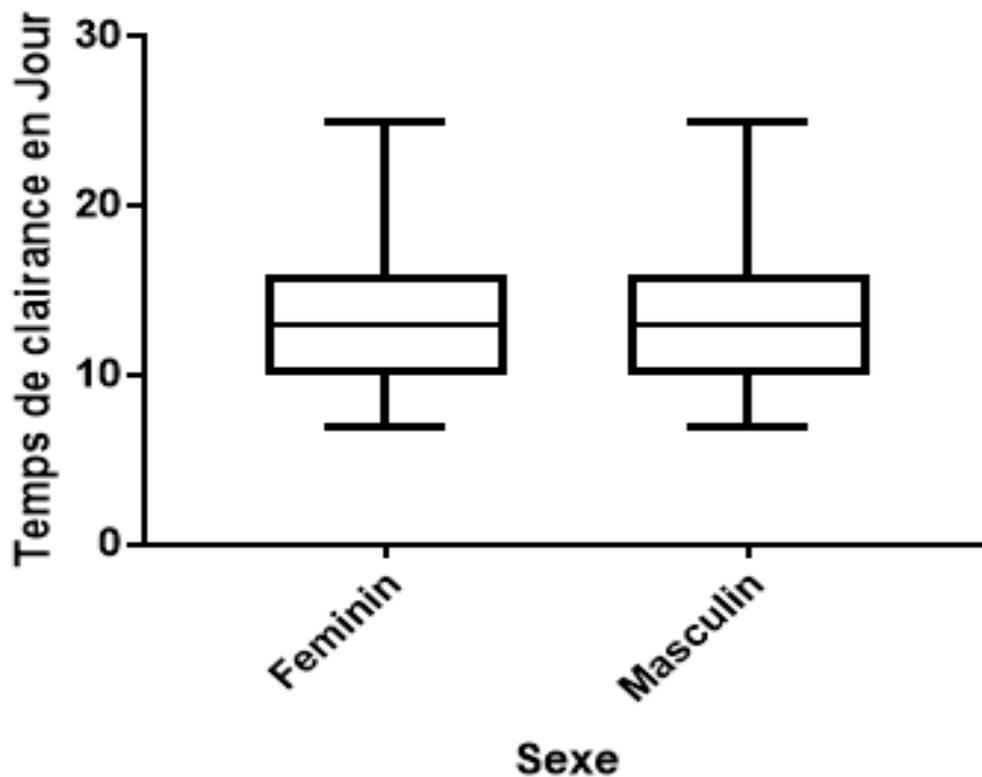


Figure 25: Répartition des patients en fonction du temps de clairance en fonction du sexe

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les deux sexes par rapport au temps moyen de clairance ($p = 0,92$; $T = 13,24 \pm 0,46$ pour le sexe masculin ($N = 127$) et $13,16 \pm 0,59$ pour le sexe féminin ($N = 73$)).

5.2.2. Détermination du temps moyen de clairance en fonction du statut clinique

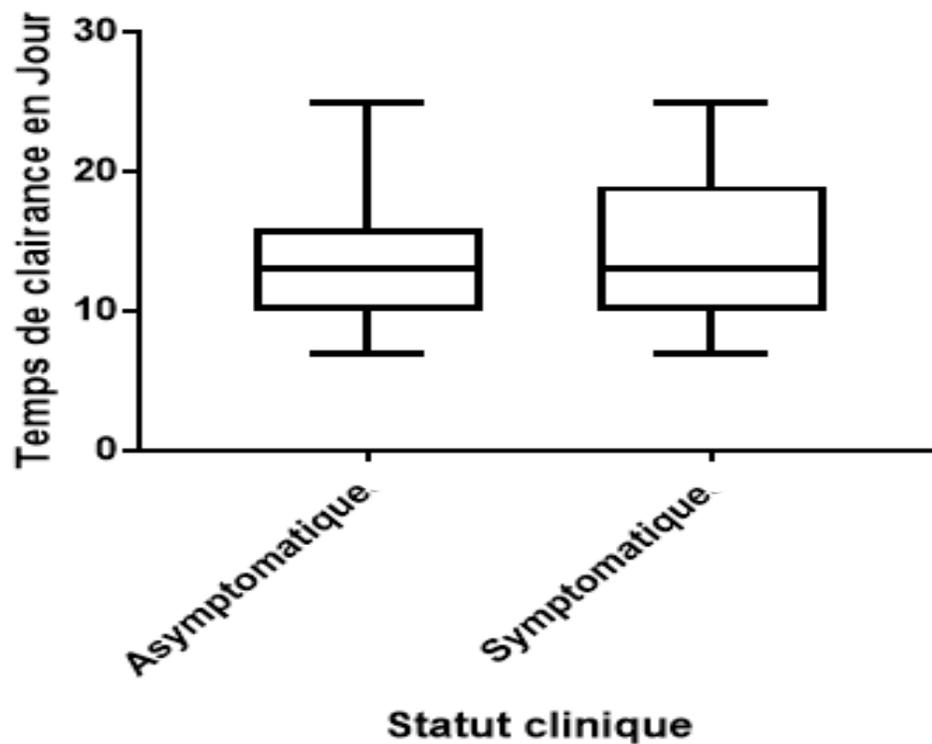


Figure 26 : Répartition des patients en fonction du temps de clairance virale et le statut clinique

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les patients symptomatiques et asymptomatiques en fonction du temps de clairance ($p = 0,71$ ($T=13 \pm 3$ jour pour les asymptomatiques ($N=164$)) et ($T=13 \pm 4$ jour pour les symptomatiques ($N= 36$)).

5.2.3. Détermination du temps moyen de clairance en fonction de la tranche d'âge

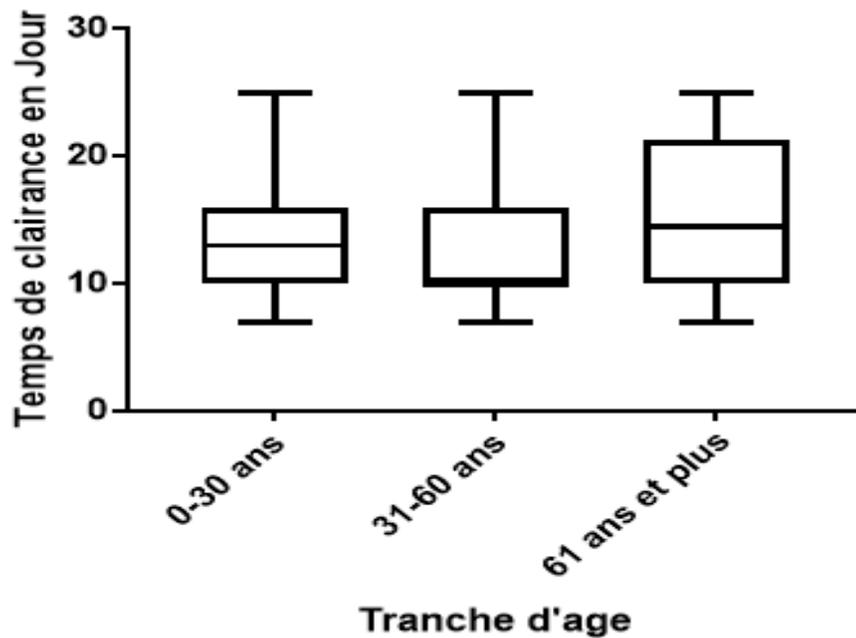


Figure 27 : Répartition des patients en fonction du temps de clairance virale et la tranche d'âge

Une clairance rapide avait été observée pour la tranche d'âge [31-60] (N= 104 et une moyenne de 10 ± 5 jours) avec un Pp significatif à 0,01.

En revanche, la différence n'était pas statistiquement significative pour les tranches d'âge 0-30 (N= 68 avec une moyenne de 13 ± 5 jours) et 61 et plus (N= 15 et une moyenne de 15 ± 5 jours).

5.2.4. Détermination du temps moyen de clairance en fonction du Ct initial

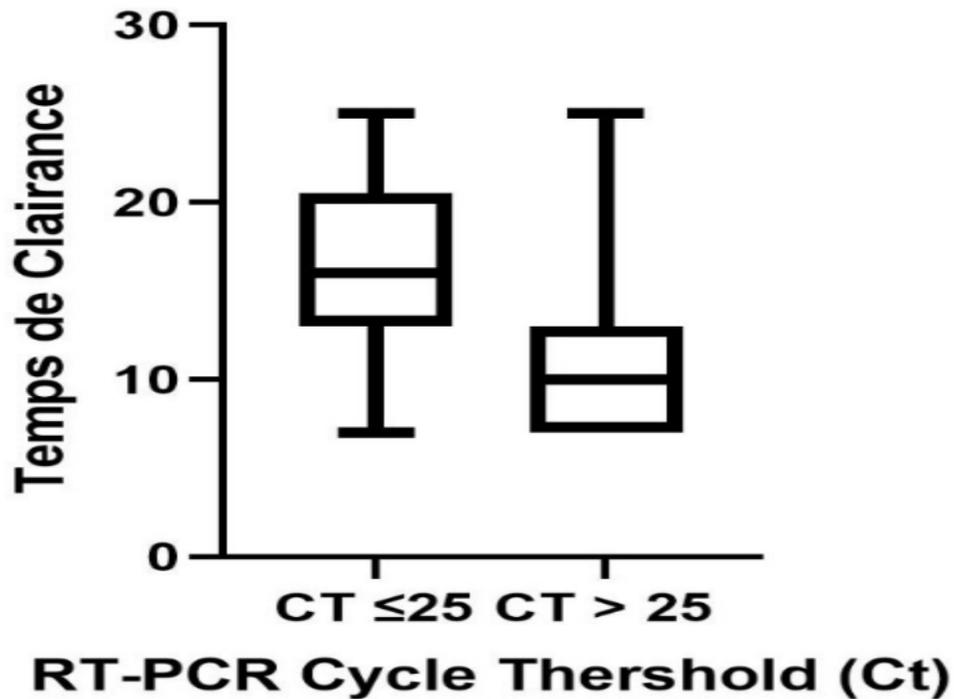


Figure 28: Répartition des patients en fonction du temps de clairance virale et la valeur CT initiale (Ct_0)

Il y avait une différence statistiquement significative en fonction du CT initiale. Ainsi les patients qui avaient une valeur de $Ct_0 \leq 25$ ($N=77$) avaient une moyenne de $15,8 \pm 4,8$ jours de temps de clairance plus longue que ceux ayant une valeur de $Ct_0 > 25$ ($N=123$) qui était de 11 ± 5 jours). ($p < 0,001$).

6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

6.1. Caractéristiques sociodémographiques et cliniques des patients

Le sexe masculin était dominant à 63,5% (Tableau IV) avec un ratio de 1,73. Cette valeur est proche de celle obtenue par Nikpouraghdam M *et al.* en Iran en 2020 avec un ratio de 1,93(74); et Ketfi A. *et al.* en Algérie en 2020 avec un ratio 1,8 (75) . En outre près de la moitié des personnes de notre étude étaient de la tranche d'âge de 31-60 ans soit 51,7% (Tableau IV) avec une moyenne d'âge de $39,52 \pm 16,58$. Cela pourrait s'expliquer par le fait que dans la société malienne, la plupart des hommes (généralement jeunes), sont plus actifs que les femmes et donc plus exposés au virus. Henkens *et al.* ont trouvé une moyenne d'âge de $69 \pm 34,5$ avec 64% d'hommes, cela pourrait s'expliquer par le fait que dans leur étude le critère d'inclusion était uniquement des personnes âgées entre [58-77] (76). Cependant les hommes pourraient être considérés comme une source importante dans la transmission de la COVID-19.

A l'inclusion, 82% (164/200) (Tableau IV) des personnes n'avaient aucun signe de COVID-19. Nous avons remarqué que les personnes venaient pour se faire dépister lorsqu'elles étaient en contact avec des cas positifs. Cette valeur est similaire à celle obtenue par Wan *et al.* en 2020 dont 83,7 % des patients inclus dans leur étude avaient des antécédents de contact avec des cas positifs à Wuhan (77). Cette prédominance des cas asymptomatiques s'expliquerait par le fait que la majorité étaient des cas contacts qui sont également des personnes n'ayant pas encore développées de signes.

6.2. Temps moyen de clairance en fonction du sexe

Dans notre étude nous n'avons pas trouvé des différences statistiquement significatives ($p=0,92$) entre le sexe (masculin et féminin) en termes de temps de clairance (en moyenne de 13 jours) (Figure 21). Notre hypothèse était que les femmes ayant des hormones sexuelles protectrices et que leur temps de clairance sera plus court que les hommes. En outre une étude menée par Wan *et al.* en 2020 a également confirmé qu'il n'y avait pas de différence statistiquement significative ($p=0,92$) dans la proportion de patients masculins et féminins (77). Cela pourrait s'expliquer par le fait que les hommes aussi bien que chez les femmes ont été traités de la même manière.

6.3. Temps moyen de clairance en fonction du statut clinique

Dans notre étude nous n'avons pas trouvé des différences statistiquement significatives ($p=0,71$) du temps moyen de clairance entre les patients symptomatiques et asymptomatiques respectivement (une moyenne de 13 ± 4 jours et 13 ± 3 jours) (Figure 22). Nous avons supposé que le groupe asymptomatique, comme ne possédant pas de symptômes, leur temps de clairance sera plus court par rapport au groupe symptomatique. Nos résultats sont différents de ceux de Uhm *et al.* en 2020, qui ont démontré que le temps de clairance était plus court dans le groupe des patients asymptomatiques que dans le groupe des patients symptomatiques ($p =0,44$) respectivement avec une moyenne (14,5 jours et 18,0 jours)(78). Cela pourrait s'expliquer par le fait que dans leur étude le groupe des patients symptomatiques était 4 fois supérieur à celui de notre étude. Aussi dans leur étude, les symptômes majeurs retrouvés étaient : la toux, les frissons, les douleurs musculaires, l'écoulement nasal, les maux de tête, les éternuements et les maux de gorge ce qui aurait prolongé leur temps de rémission tandis que chez nos patients ce n'était que des symptômes mineurs comme le rhume, l'asthénie qui ne sont pas beaucoup plus sévères pour faire durer la clairance virale du SARS-CoV-2.

6.4. Temps moyen de clairance en fonction de la tranche d'âge

Nous avons observé que les patients de la tranche d'âge de 31-60 ans (51,7%) avaient un temps de clairance plus court soit une moyenne de 10 ± 5 jours que ceux des tranches d'âges de 0-30 et 61 ans et plus ($p =0,01$) (Figure 23). Ainsi, nous soupçonnons que l'âge soit le principal facteur de risque de la gravité de la maladie du COVID-19 au Mali. Il a été rapporté dans une étude menée par Hirai *et al.* en 2021 au Japon. le temps de clairance était plus court chez les personnes de 30-60 ans que chez les personnes de plus de 60 ans ($p <0,001$) (79). Ceci pourrait expliquer par le fait que les tranches d'âges de 0-30 et 60 ans et plus, pour la plupart des enfants et des personnes âgées avec des systèmes immunitaires qui paraissent plus faible que ceux des tranches d'âges adultes de 31-60.

6.5. Temps moyen de clairance en fonction du Ct initial

Dans notre étude, 54,5% des patients (Figure 24) avait une charge virale faible ($Ct_0 > 25$) et ils ont le temps moyen de clairance plus court (moyenne de 11 jours), contrairement à ceux des patients qui ont des Ct_0 ($Ct_0 \leq 25$) avec 38,5% et une moyenne de $15,8\pm 4,8$ jours ($p <0,001$).

Ces mêmes remarques avaient été faites dans une étude menée par Aranha *et al.* en 2021 au Brésil qui montraient que les patients qui avaient de $Ct_0 \leq 25$ ont un temps de clairance plus long (moyenne 15 à 30 jours) que ceux des patients qui avaient de $Ct_0 > 25$ (8 à 14 jours) ($P < 0,001$), (54). Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que les valeurs du Ct_0 faibles sont dues à des charges virales élevées. La diminution de la charge virale s'effectue lentement donc les patients ayant des Ct_0 initiales faibles lors du dépistage mettent beaucoup plus de temps à devenir négatifs par rapport à ceux qui avaient des Ct_0 initiales élevés.

6.6. Limites de l'étude

Notre étude a des limites en particulier à cause du caractère rétrospectif principalement, l'incomplétude des données détaillées des patients qui n'a pas permis d'inclure tous les patients, car leur suivi de diagnostic et thérapeutique n'était pas achevé chez nous.

L'absence des patients suivis mais qui ne sont pas sous traitement.

Une autre limite concerne l'absence des données des tests Elisa dont les valeurs des IgG/IgM auraient pu être comparées aux résultats du temps de clairance virale.

En plus, nous n'avons pas pu effectuer le séquençage pour déterminer les mutations ou les variants qui auraient été associées à la clairance virale.

7. CONCLUSION .

Nous avons observé que le temps moyen de clairance virale était de 13 jours et que ce temps était plus court chez les patients d'âge adulte (30-61 ans) et ceux avec une charge virale initiale faible ($C_{t0} > 25$).

8. RECOMMANDATIONS ET PERSPECTIVES

8.1. RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude de vue nos resultats nous formulons les recommandations suivantes :

➤ Au ministère de la Santé

- Multiplier les sites de diagnostic et de suivi de la COVID-19 à travers le pays ;
- Renforcer la sensibilisation pour le respect des mesures barrières ;
- Intensifier les campagnes de vaccination à travers le pays
- Financer les activités de recherche scientifique pour renforcer les activités de surveillance épidémiologique de la COVID-19 au Mali

➤ A la population Malienne

- Respecter strictement les mesures barrières édictées par les autorités sanitaires ;
- Chercher toujours la bonne information à travers les outils authentiques (médias surs, sites web, réseaux sociaux, numéros verts...) mis à disposition par les autorités ;
- Se rendre dans un centre hospitalier lorsqu'un membre de la famille ou du service a été testé positif ou lorsqu'on sent des symptômes similaires à la COVID-19 ;
- Respecter un confinement strict lorsqu'on est détecté positif au COVID-19

8.2. PERSPECTIVES

Il sera important de faire une étude avec une large cohorte des patients afin d'évaluer l'importance de la clairance en y associant éventuellement le statut vaccinal.

9. REFERENCES

1. Rosenthal PJ, Breman JG, Djimde AA, John CC, Kanya MR, Leke RGF, et al. COVID-19: Shining the Light on Africa. *Am J Trop Med Hyg.* juin 2020;102(6):1145- 8.
2. Cuadra-Sánchez C, Rivero A, Cabrera C, Faneite P, Vigil-De Gracia P. Prevention of COVID-19 in pregnant women, eventual use of new vaccines. *Gac Médica Caracas.* 5 juin 2021;129(2):421- 8.
3. Rosenthal PJ, Breman JG, Djimde AA, John CC, Kanya MR, Leke RGF, et al. COVID-19: Shining the Light on Africa. *Am J Trop Med Hyg.* juin 2020;102(6):1145- 8.
4. Agbota G, Bonnet M, Lienhardt C. Perspectives d'élimination de la tuberculose : la stratégie OMS à l'épreuve de la pandémie de COVID-19. *Médecine Mal Infect Form.* juin 2022;1(2):62- 8.
5. El Boussadani B, Benajiba C, Aajal A, Ait Brik A, Ammour O, El Hangouch J, et al. Pandémie COVID-19 : impact sur le système cardiovasculaire. Données disponibles au 1er avril 2020. *Ann Cardiol Angeiol (Paris).* mai 2020;69(3):107- 14.
6. Virachith S, Pommelet V, Calvez E, Khounvisith V, Sayasone S, Kounnavong S, et al. Low seroprevalence of COVID-19 in Lao PDR, late 2020. *Lancet Reg Health West Pac.* 14 juill 2021;13:100197.
7. Mustafa U khair, Kreppel KS, Brinkel J, Sauli E. Digital Technologies to Enhance Infectious Disease Surveillance in Tanzania: A Scoping Review. *Healthcare.* janv 2023;11(4):470.
8. Hantz S. Diagnostic biologique de l'infection à Sars-CoV-2 : stratégies et interprétation des résultats. *Rev Francoph Lab.* nov 2020;2020(526):48- 56.
9. Diarra B, Kone A, Guindo I, Bane S, Doumbia L, Timbine L, et al. A Coordinated Public Health Laboratory Response to COVID-19 in Mali. *Front Trop Dis [Internet].* 2022 [cité 3 janv 2023];2. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fitd.2021.788616>
10. Tyrrell DA, Bynoe ML. Cultivation of viruses from a high proportion of patients with colds. *Lancet Lond Engl.* 8 janv 1966;1(7428):76- 7.
11. Elde NC. Poliovirus evolution: the strong silent type. *Cell Host Microbe.* 15 nov 2012;12(5):605- 6.
12. Paraskevis D, Kostaki EG, Magiorkinis G, Panayiotakopoulos G, Sourvinos G, Tsiodras S. Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. *Infect Genet Evol.* avr 2020;79:104212.

13. Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. mars 2020;579(7798):270- 3.
14. Chams N, Chams S, Badran R, Shams A, Araji A, Raad M, et al. COVID-19: A Multidisciplinary Review. *Front Public Health*. 29 juill 2020;8:383.
15. Lam TTY, Jia N, Zhang YW, Shum MHH, Jiang JF, Zhu HC, et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*. juill 2020;583(7815):282- 5.
16. Zheng J. SARS-CoV-2: an Emerging Coronavirus that Causes a Global Threat. *Int J Biol Sci*. 2020;16(10):1678- 85.
17. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 20 févr 2020;382(8):727- 33.
18. Chauhan G, Madou MJ, Kalra S, Chopra V, Ghosh D, Martinez-Chapa SO. Nanotechnology for COVID-19: Therapeutics and Vaccine Research. *ACS Nano*. 28 juill 2020;14(7):7760- 82.
19. Kin N, Vabret A. Les infections à coronavirus humains. *Rev Francoph Lab*. déc 2016;2016(487):25- 33.
20. Koster W, Ndione AG, Adama M, Guindo I, Sow I, Diallo S, et al. An oral history of medical laboratory development in francophone West African countries. *Afr J Lab Med*. 16 mars 2021;10(1):1157.
21. Ai T, Yang Z, Hou H, Zhan C, Chen C, Lv W, et al. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology*. août 2020;296(2):E32- 40.
22. Ortiz-Prado E, Simbaña-Rivera K, Gómez- Barreno L, Rubio-Neira M, Guaman LP, Kyriakidis NC, et al. Clinical, molecular, and epidemiological characterization of the SARS-CoV-2 virus and the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), a comprehensive literature review. *Diagn Microbiol Infect Dis*. sept 2020;98(1):115094.
23. Dhama K, Khan S, Tiwari R, Sircar S, Bhat S, Malik YS, et al. Coronavirus Disease 2019– COVID-19. *Clin Microbiol Rev*. 24 juin 2020;33(4):e00028-20.
24. Rosenthal PJ, Breman JG, Djimde AA, John CC, Kanya MR, Leke RGF, et al. COVID-19: Shining the Light on Africa. *Am J Trop Med Hyg*. juin 2020;102(6):1145- 8.
25. Rousseau A, Fenolland JR, Labetoulle M. SARS-CoV-2, COVID-19 et œil : le point sur les données publiées. *J Fr Ophtalmol*. sept 2020;43(7):642- 52.
26. Birgand G, Kerneis S, Lucet JC. Modes de transmission du SARS-CoV-2 : que sait-on actuellement ? *Médecine Mal Infect Form*. janv 2022;1(1):2- 12.

27. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. [cité 20 sept 2022]. Disponible sur: <https://covid19.who.int>
28. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19(3):141- 54.
29. Lo CY, Tsai TL, Lin CN, Lin CH, Wu HY. Interaction of coronavirus nucleocapsid protein with the 5'- and 3'-ends of the coronavirus genome is involved in genome circularization and negative-strand RNA synthesis. *FEBS J.* août 2019;286(16):3222- 39.
30. Chu X, Zhang X, Cheng P, Schwebel DC, Hu G. Assessing the Use of Media Reporting Recommendations by the World Health Organization in Suicide News Published in the Most Influential Media Sources in China, 2003-2015. *Int J Environ Res Public Health.* 5 mars 2018;15(3):E451.
31. Ortiz-Prado E, Simbaña-Rivera K, Gómez- Barreno L, Rubio-Neira M, Guaman LP, Kyriakidis NC, et al. Clinical, molecular, and epidemiological characterization of the SARS-CoV-2 virus and the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), a comprehensive literature review. *Diagn Microbiol Infect Dis.* sept 2020;98(1):115094.
32. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet Lond Engl.* 2020;395(10234):1417- 8.
33. Caumes E. L'infection à SARS-CoV-2. *Arch Mal Coeur Vaiss Prat.* oct 2020;2020(291):2- 4.
34. Rousseau A, Fenolland JR, Labetoulle M. SARS-CoV-2, COVID-19 et œil : le point sur les données publiées. *J Fr Ophtalmol.* sept 2020;43(7):642- 52.
35. Bonny V, Maillard A, Mousseaux C, Plaçais L, Richier Q. COVID-19 : physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. *Rev Med Interne.* juin 2020;41(6):375- 89.
36. Plaçais L, Richier Q. COVID-19 : caractéristiques cliniques, biologiques et radiologiques chez l'adulte, la femme enceinte et l'enfant. Une mise au point au cœur de la pandémie. *Rev Med Interne.* mai 2020;41(5):308- 18.
37. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell.* 18 févr 2021;184(4):861- 80.
38. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med.* 1 mai 2020;46(5):846- 8.
39. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet.* 28 mars 2020;395(10229):1033- 4.

40. Bessagnet F, Desmoulière A. Les poumons. *Actual Pharm.* 1 févr 2021;60(603):55- 9.
41. Dhama K, Patel SK, Sharun K, Pathak M, Tiwari R, Yattoo MI, et al. SARS-CoV-2 jumping the species barrier: Zoonotic lessons from SARS, MERS and recent advances to combat this pandemic virus. *Travel Med Infect Dis.* 2020;37:101830.
42. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol.* 2021;19(3):155- 70.
43. Rosenthal PJ, Breman JG, Djimde AA, John CC, Kanya MR, Leke RGF, et al. COVID-19: Shining the Light on Africa.
44. Gómez-Carballa A, Bello X, Pardo-Seco J, Martínón-Torres F, Salas A. Mapping genome variation of SARS-CoV-2 worldwide highlights the impact of COVID-19 super-spreaders. *Genome Res.* oct 2020;30(10):1434- 48.
45. Sanyal S. How SARS-CoV-2 (COVID-19) spreads within infected hosts - what we know so far. *Emerg Top Life Sci.* 11 déc 2020;4(4):371- 8.
46. Caumes E. L'infection à SARS-CoV-2. *Arch Mal Coeur Vaiss Prat.* oct 2020;2020(291):2- 4.
47. Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res.* 1 juill 2020;24:91- 8.
48. Machhi J, Herskovitz J, Senan AM, Dutta D, Nath B, Oleynikov MD, et al. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *J Neuroimmune Pharmacol.* 21 juill 2020;1- 28.
49. Tang H, Tian JB, Dong JW, Tang XT, Yan ZY, Zhao YY, et al. Serologic Detection of SARS-CoV-2 Infections in Hemodialysis Centers: A Multicenter Retrospective Study in Wuhan, China. *Am J Kidney Dis.* oct 2020;76(4):490-499.e1.
50. Javelot H, Llorca PM, Drapier D, Fakra E, Hingray C, Meyer G, et al. Informations relatives aux psychotropes et à leurs adaptations éventuelles pour les patients souffrant de troubles psychiques en France pendant l'épidémie à SARS-CoV-2. *L'Encephale.* juin 2020;46(3):S14- 34.
51. Pondaven-Letourmy S, Alvin F, Boumghit Y, Simon F. Comment réaliser un prélèvement rhinopharyngé chez l'adulte et l'enfant en période de la pandémie de la maladie COVID-19. *Ann Francaises Oto-Rhino-Laryngol Pathol Cervico-Faciale.* sept 2020;137(4):301- 3.
52. Pondaven-Letourmy S, Alvin F, Boumghit Y, Simon F. Comment réaliser un prélèvement rhinopharyngé chez l'adulte et l'enfant en période de la pandémie de la maladie COVID-19. *Ann Francaises Oto-Rhino-Laryngol Pathol Cervico-Faciale.* sept 2020;137(4):301- 3.

53. Salem MLO, Sidiya MAMM, Eibih ABA, Maouloud MM, Ngaide BH, Dedy L, et al. Dépistage sérologique de SARS-CoV-2 chez une population de personnel de santé à Nouakchott-Mauritanie. *Pan Afr Med J*. 18 janv 2021;38:55.
54. Aranha C, Patel V, Bhor V, Gogoi D. Cycle threshold values in RT- PCR to determine dynamics of SARS- CoV- 2 viral load: An approach to reduce the isolation period for COVID- 19 patients. *J Med Virol*. déc 2021;93(12):6794- 7.
55. Safiabadi Tali SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, Oyewunmi OD, Camargo C, Nikpour B, et al. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clin Microbiol Rev*. 12 mai 2021;34(3):e00228-20.
56. Lefeuvre C, Przyrowski É, Apaire-Marchais V. Aspects virologiques et diagnostic du coronavirus Sars-CoV-2. *Actual Pharm*. oct 2020;59(599):18- 23.
57. Becker MG, Taylor T, Kiazzyk S, Cabiles DR, Meyers AFA, Sandstrom PA. Recommendations for sample pooling on the Cepheid GeneXpert® system using the Cepheid Xpert® Xpress SARS-CoV-2 assay. *PLoS ONE*. 9 nov 2020;15(11):e0241959.
58. Fenollar F, Bouam A, Ballouche M, Fuster L, Prudent E, Colson P, et al. Evaluation of the Panbio COVID-19 Rapid Antigen Detection Test Device for the Screening of Patients with COVID-19. *J Clin Microbiol*. 21 janv 2021;59(2):e02589-20.
59. Safiabadi Tali SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, Oyewunmi OD, Camargo C, Nikpour B, et al. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clin Microbiol Rev*. 12 mai 2021;34(3):e00228-20.
60. Fox T, Geppert J, Dinnes J, Scandrett K, Bigio J, Sulis G, et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS- CoV- 2. *Cochrane Database Syst Rev*. 17 nov 2022;2022(11):CD013652.
61. Benameur N, Mahmoudi R, Zaid S, Arous Y, Hmida B, Bedoui MH. SARS-CoV-2 diagnosis using medical imaging techniques and artificial intelligence: A review. *Clin Imaging*. août 2021;76:6- 14.
62. Matusik É, Ayadi M, Picard N. Covid-19, prise en charge, pistes thérapeutiques et vaccinales. *Actual Pharm*. oct 2020;59(599):27- 33.
63. Revue rapide de la littérature scientifique : proportion de personnes asymptomatiques, leur réponse immunitaire et leur potentiel de transmission de la COVID-19. :14.
64. Matusik É, Ayadi M, Picard N. Covid-19, prise en charge, pistes thérapeutiques et vaccinales. *Actual Pharm*. oct 2020;59(599):27- 33.
65. Jeevaratnam K. Chloroquine and hydroxychloroquine for COVID-19: implications for cardiac safety. *Eur Heart J — Cardiovasc Pharmacother*. 29 avr 2020;pvaa041.

66. Bricaire F, Salmon D, Danis M, Gentilini M. [Antimalarials and pregnancy]. *Bull Soc Pathol Exot* 1990. 1991;84(5 Pt 5):721- 38.
67. Echeverría-Esnal D, Martin-Ontiyuelo C, Navarrete-Rouco ME, De-Antonio Cuscó M, Ferrández O, Horcajada JP, et al. Azithromycin in the treatment of COVID-19: a review. *Expert Rev Anti Infect Ther.* févr 2021;19(2):147- 63.
68. Longembe EB, Kitronza PL. Observance de l'hygiène des mains dans les hôpitaux généraux de référence de la ville de Kisangani en République Démocratique du Congo. *Pan Afr Med J.* 26 févr 2020;35:57.
69. Hamadouche M. Moyens de prévention du risque d'exposition au SARS-Cov-2 : enquête auprès des pharmaciens d'une ville de l'Est algérien. *Arch Mal Prof Environ.* août 2020;81(4):341- 7.
70. Lo Muzio L, Ambosino M, Lo Muzio E, Quadri MFA. SARS-CoV-2 Reinfection Is a New Challenge for the Effectiveness of Global Vaccination Campaign: A Systematic Review of Cases Reported in Literature. *Int J Environ Res Public Health.* 19 oct 2021;18(20):11001.
71. Manus JM. Covax, des dons de vaccins anti-Covid-19 pour les pays africains. *Rev Francoph Lab.* avr 2022;2022(541):11.
72. McAlister FA, Bushnik T, Leung AA, Saxinger L. Établir les priorités de la vaccination contre la COVID-19 en fonction de la prévalence des facteurs de risque chez les adultes au Canada. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can.* 31 mai 2021;193(22):E823- 8.
73. Diarra B, Goita D, Tounkara S, Sanogo M, Baya B, Togo ACG, et al. Tuberculosis drug resistance in Bamako, Mali, from 2006 to 2014. *BMC Infect Dis.* 28 nov 2016;16(1):714.
74. Nikpouraghdam M, Jalali Farahani A, Alishiri G, Heydari S, Ebrahimnia M, Samadinia H, et al. Epidemiological characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients in IRAN: A single center study. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* juin 2020;127:104378.
75. Ketfi A, Chabati O, Chemali S, Mahjoub M, Gharnaout M, Touahri R, et al. Profil clinique, biologique et radiologique des patients Algériens hospitalisés pour COVID-19: données préliminaires. *Pan Afr Med J.* 2020;35(Suppl 2):77.
76. Henkens MTHM, Raafs AG, Verdonschot JAJ, Linschoten M, van Smeden M, Wang P, et al. Age is the main determinant of COVID-19 related in-hospital mortality with minimal impact of pre-existing comorbidities, a retrospective cohort study. *BMC Geriatr.* 5 mars 2022;22(1):184.
77. Wan S, Xiang Y, Fang W, Zheng Y, Li B, Hu Y, et al. Clinical features and treatment of COVID- 19 patients in northeast Chongqing. *J Med Virol.* 1 avr 2020;10.1002/jmv.25783.

78. Uhm JS, Ahn JY, Hyun J, Sohn Y, Kim JH, Jeong SJ, et al. Patterns of viral clearance in the natural course of asymptomatic COVID-19: Comparison with symptomatic non-severe COVID-19. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis.* oct 2020;99:279- 85.
79. Hirai N, Nishioka Y, Sekine T, Nishihara Y, Okuda N, Nishimura T, et al. Factors associated with viral clearance periods from patients with COVID-19: A retrospective observational cohort study. *J Infect Chemother Off J Jpn Soc Chemother.* juin 2021;27(6):864- 8.
80. Peres D, Boléo-Tomé JP, Santos G. [Respiratory and Facial Protection: Current Perspectives in the Context of the COVID-19 Pandemic]. *Acta Med Port.* 1 sept 2020;33(9):583- 92.

10. ANNEXES

Annexe 1 :

❖ Equipements de protection individuelle (EPI) pour le prélèvement

Ce sont des dispositifs portés par les manipulateurs de produits biologiques et destinés à les protéger physiquement contre la transmission des agents pathogènes. Ils visent donc à protéger le corps, les mains, les visages, les yeux, les voies respiratoires et digestives des manipulateurs. Ces dispositifs incluent les blouses et vêtements apparentés, les gants, les sur-chaussures, les charlottes, les lunettes, et les masques (43). Les Equipements de protection individuelle (EPI) ne préviennent pas l'accident, ils évitent ou éliminent le contact avec les personnes ou en atténuent les conséquences.



Figure 29: Equipements de protection individuelle pour le prélèvement au laboratoire

❖ **Port de l'EPI**

Leur port s'effectue en binôme et doivent être en taille convenable. Les procédures de port et de retrait des EPI se déroulent comme suit

- Enfiler la tenue chirurgicale au vestiaire ;
- Enfiler des chaussures fermées ;
- Porter la première paire de gants ;
- Enfiler la blouse imperméable par-dessus la tenue chirurgicale ;
- Mettre le masque médical ;
- Mettre une coiffe ou couvre-cheveux sur le cuir chevelu pour éviter de recevoir des éclaboussures de liquide ;
- Mettre la deuxième paire de gants en recouvrant le bas des manches de la combinaison.

❖ **Retrait de l'EPI**

Le retrait des équipements de protection individuelle se

- Pratiquer l'hygiène des mains gantées avec la solution de vespine ;
- Enlever aseptiquement la première paire des gants ;
- Pratiquer l'hygiène des mains gantées avec la solution de vespine ;
- Enlever soigneusement la coiffe ou couvre-cheveux en le basculant par derrière s'il est attaché à la combinaison ;
- Pratiquer l'hygiène des mains gantées avec la solution de vespine ;
- Enlever le masque en commençant par l'arrière ;
- Pratiquer l'hygiène des mains gantées avec la solution de vespine ;
- Enlever les bottes en caoutchouc, les retirer sans les toucher ;
- Pratiquer l'hygiène des mains gantées avec la solution de vespine ;
- Enlever la deuxième paire des gants.

Annexe 2 :

❖ Critères de confinement

✓ Cas contact

Toute personne, en l'absence de mesures de protection efficaces ayant en contact avec des cas confirmé doit respecter un isolement.

- Prescription de RT-PCR à réaliser immédiatement dans les 48 heures
- Arrêt de travail
- Isolement strict au domicile ou en centre d'hébergement
- RT-PCR négative : Levée de l'isolement
- RT-PCR positive. Ces patients peuvent être isolés dans un établissement de soins ou un équipement collectif désigné pour la COVID-19 ou encore à domicile (auto-isolement)

Durant son isolement, la personne contact doit :

- éviter les contacts
- respecter les gestes barrières
- respecter la distanciation permanente
- le port du masque obligatoire,
- L'hygiène renforcée
- prendre des médicaments pour éliminer le virus
- réaliser la surveillance de sa température et l'apparition de symptômes
- ❖ Prise en charge de la COVID-19 bénigne : traitement symptomatique.

Annexe 3 :

❖ Inactivation

➤ Matériels utilisés

Les matériels suivants ont été utilisés :

- des tubes eppendorf (1.5 ml)
- un portoire de tubes eppendorf
- une micropipette et embouts de 15 ml
- une micropipette et embouts de 20 µl
- une micropipette et embouts de 100 µl
- une micropipette et embouts de 300 µl
- une micropipette et embouts de 335 µl
- un vortex (ou agitation vibrante pour mélange des solutions)
- un incubateur (iheet) a 56 °c

➤ Réactifs utilisés et leur rôle

➤ Les réactifs suivants ont été utilisés :

- un AVL : il permet d'inactiver (tuer) le virus et libéré l'arn
- un contrôle interne : il permet de confirmer la présence ou pas de adn
- l'éthanol : elle permet de précipiter le matériel génétique

❖ Extraction :

➤ Matériels utilisés

Les matériels suivants ont été utilisés :

- des tubes eppendorf ;
- des colonnes ;
- une micropipette et embouts 500 µl
- une micropipette et embouts 60 µl
- une centrifugeuses (eppendorf centrifuge) ;
- des portoirs pour des tubes et colonnes

➤ **Réactifs utilisés et leur rôle**

Les matériels suivants ont été utilisés :

- une membrâmes de silice : elle permet de capter l'ARN
- un AW1 et AW2 : elle est utilisée comme solution de lavage
- l'éthanol : il est utilisé pour préparer AW1 et AW2

❖ **Réaction de polymérisation en chaîne par rétrotranscription (RT-PCR) :**

➤ **Matériels utilisés**

Les matériels suivants ont été utilisés :

- des hottes à flux laminaires
- un vortex (ou agitation vibrante pour mélange des solution)
- une micropipette et embout 10 µl
- une micropipette et embout 15 µl
- une plaque à loge pour la rt-pcr
- un fine couche de plastique
- une machine pour rt-pcr (real time polymérase chain réaction) : 7500 fast dx

➤ **Réactifs utilisés et leur rôle**

Les matériels suivants ont été utilisés :

- **une solution RT** : c'est un catalyseur qui permet la réaction de transcriptase inverse
- **l'eau pure** : elle permet la dilution
- **RO1** : c'est un réactif qui permet la détection, l'amplification a une région donnée

❖ FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : Sow

Prénom : Mariame

Section : Pharmacie

Titre de la thèse : Temps moyen de clairance virale chez les patients infectés par SARS-CoV-2 sous traitement à Bamako/Mali

Année académique : 2021-2022

Pays d'origine : Mali

Ville de soutenance : Bamako (MALI)

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de pharmacie (FAPH)

Secteur d'intérêt : Microbiologie, Santé Publique, Maladies Infectieuses

E-mail : mariamesow874@gmail.com

RESUME

En décembre 2019, une épidémie de pneumonie due au nouveau coronavirus 2019, le SARS-CoV-2 a éclaté à Wuhan, en Chine et a finalement causé une pandémie mondiale. L'objectif de cette étude était de déterminer la durée de positivité du SRAS-CoV-2 chez les patients COVID-19 sous traitement au Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC).

Une étude de cohorte a été menée sur 200 patients entre février et août 2021 chez les patients diagnostiqués et suivis par le laboratoire UCRC. La clairance a été définie comme toute personne ayant deux résultats de RT-PCR négatifs successivement pendant 24 heures sur des échantillons oro ou nasopharyngés.

Nous avons observé que la période moyenne de persistance de l'ARN viral était de 13 jours dans les échantillons respiratoires. Cette durée n'était pas associée à la gravité (symptomatique ou asymptomatique) de maladie, mais plutôt à la valeur de la charge virale initiale (Ct) et à l'âge des patients.

Cette étude nous a permis de comprendre que l'ARN viral persiste pendant une période un peu longue dans les échantillons respiratoires et que cette persistance n'est pas forcément associée à la gravité (symptomatique ou asymptomatique) de la maladie, mais plutôt de la charge virale initiale et la tranche d'âge.

Mots clés : clairance, COVID-19, traitement, Mali

❖ INFORMATIONAL SHEET

Name: Sow

First name: Mariame

Section: pharmacy

Title: Viral clearance time in SARS-COV-2 infected patients under treatment in Bamako/Mali

Year: 2019-2020

City of Defense: Bamako (Mali)

Country: Mali

Deposit point: Library of the Faculty of pharmacy

Area of interest: Microbiology, Public Health, Infectious Diseases

E-mail : mariamesow874@gmail.com

ABSTRACT

Introduction

In December 2019, an outbreak of pneumonia due to the novel 2019 coronavirus, SARS-CoV-2 broke out in Wuhan, China and ultimately caused a global pandemic. The objective of this study was to determine the duration of SARS-CoV-2 positivity in COVID-19 patients undergoing treatment at the University Clinical Research Center (UCRC).

A cohort study was conducted on 200 patients between February and August 2021 in patients diagnosed and followed by the UCRC laboratory. Clearance was defined as anyone with two successive negative RT-PCR results for 24 hours on oro or nasopharyngeal samples.

We observed that the mean period of viral RNA persistence was 13 days in respiratory specimens. This duration was not associated with the severity (symptomatic or asymptomatic) of disease, but rather with the initial viral load (Ct) value and the age of the patients.

This study allowed us to understand that viral RNA persists for a somewhat longer period in respiratory samples and that this persistence is not necessarily associated with the severity (symptomatic or asymptomatic) of the disease, but rather with the initial viral load and the age range.

Key words: clearance, COVID-19, treatment, Mali

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 les actes criminels ;

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

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le jure !!