

Ministère de l'Éducation Nationale,
de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple Un But Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO

FACULTE DE PHARMACIE



U.S.T.T-B

Année universitaire 2019-2020



N° :

Titre

**SPECTRE DES VIRUS ET DES BACTERIES
DES VOIES RESPIRATOIRES DANS L'AIRE
DE SANTE DE YIRIMADIO ET DE L'HOPITAL
DU MALI**

Thèse

Présentée et soutenue publiquement le.../.../2021 devant la Faculté de Pharmacie par

Mr Mahamadou TOGOLA

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (**Diplôme d'Etat**)

Jury

Président : Prof. Yacouba TOLOBA

Membres : Dr. Mohamed Ag BARAIKA

Dr. Elisabeth SOGODOGO

Co-directeur : Dr. Abdoul Karim SANGARE

Directeur : Prof. Agrégé Bourèma KOURIBA

**LISTE DES MEMBRES DE L'ADMINISTRATION ET DU CORPS ENSEIGNANT A LA
FACULTÉ DE PHARMACIE ANNEE UNIVERSITAIRE 2019-2020**

ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE / Professeur

Vice-doyen : Sékou BAH / Maitre de Conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des finances.

PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Mahamadou	CISSE	Biologie
4	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
5	Souleymane	DIALLO	Bactériologie-virologie
6	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
7	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
8	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
9	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
10	Alou A.	KEÏTA	Galénique
11	Mamadou	KONE	Physiologie
12	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
13	Brehima	KOUMARE	Bactériologie/Virologie
14	Abdourahamane S	MAÏGA	Parasitologie
15	Saidou	MAIGA	Législation
16	Elimane	MARIKO	Pharmacologie

17	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie
----	-----------------	--------	----------

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MÉDICALES

1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Noumirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie-parasitologie
4	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
5	Alassane	DICKO	Santé Publique
6	Abdoulaye	DJIMDE	Biologie / Parasitologie
7	Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
8	Akory Ag	IKNANE	Santé publique/ Nutrition
9	Ousmane	TOURE	Santé Publique/ Santé environnement
10	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
2	Kassoum	KAYENTAO	Santé publique/Bio statistique
3	Bourèma	KOURIBA	Immunologie chef de DER
4	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
5	Mahamadou soumana	SISSOKO	Bio-statistique
6	Ousmane	TOURE	Santé publique/ Santé environnement

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-Virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tietie	BISSAN	Biologie Clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biologie Clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biologie Clinique
6	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie-Mycologie
8	Djeneba Koumba	DABITAO	Biologie Moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
10	Kletigui Casmir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOITA	Biologie Clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie-Virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie Moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé Publique
16	Almoustapha Ssiaka	MAIGA	Bactériologie-Virologie
17	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Santé publique/Santé communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/ Diététique

2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
4	Merepen dit Agnes	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEITA	Santé publique/Santé environnement
6	N'DeyeLallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
	- Néant - -		

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGÉ DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière

6	Mahamane	H Aidara	Pharmacognosie
7	Hamma Boubacar	Maïga	Galénique
8	Moussa	Sanogo	Gestion
9	Adiaratou	Togola	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ ATTACHÉ DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Seydou Lahaye	Coulibaly	Gestion Pharmaceutique
2	Daouda Lassine	Dembele	Pharmacognosie
3	Adama	Denou	Pharmacognosie
4	Sékou	Doumbia	Pharmacognosie
5	Assitan	Kaloga	Législation
6	Ahmed	Maïga	Législation
7	Aïchata Ben Adam	Mariko	Galénique
8	Aboubacar	Sangho	Législation
9	Bourama	Traore	Législation
10	Karim	Traore	Sciences Pharmaceutique
11	Sylvestre	Traore	Gestion Pharmaceutique
12	Aminata Tiéba	Traore	Pharmacie hospitalière
13	Mohamed dit Sarmoye	Traore	Pharmacie hospitalière

DER : SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Benoit yaranga	Koumare	Chimie Analytique, Chef de DER
2	Ababacar I.	Maïga	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Sékou	BAH	Pharmacologie

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie Chimique
2	Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
6	HamadounAbba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS/ ATTACHÉ DE RECHERCHE

N°	PRÉNOMS	NOM	SPÉCIALITÉS
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dallaye Bernadette	COULIBALY	Chimie Analytique
3	Blaise	DACKOUO	Chimie Analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie/ Chef de DER
2	Mahamadou	TRAORE	Génétique

2 MAITRES DE CONFERENCE/ MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITES
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie Appliqué

3. MAITRES ASSISTANTS /CHARGE DE RECHERCHE

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

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

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

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOMS	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba	COULIBALY	Droit commercial
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Moussa I	DIARRA	Biophysique
7	Babacar	DIOP	Chimie
8	Aboubacary	MAIGA	Chimie organique
9	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
10	Modibo	SANGARE	Anglais
11	Satigui	SIDIBE	Pharmacie Vétérinaire
12	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
13	Fana	TANGARA	Mathématiques
14	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
15	Mamadou B	TRAORE	Physiologie
16	Boubacar	ZIBEIROU	Physique

DEDICACE

A mon très cher Père **Mamoutou TOGOLA**

Tu as été et resteras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et perfectionnisme. Vous êtes un père sage et battant qui a toujours milité pour la réussite de ses enfants. Cher papa plus rien au monde n'est précieux à mes yeux que ton accompagnement. Ce n'est ni la richesse, ni le statut social d'un homme qui le fait un bon père mais plutôt son attachement aux causes nobles de sa progéniture. Mon très cher papa tu n'as jamais laissé ta condition sociale perturber mes études ; toi qui acceptais de voir ta poche vide que de me regarder hors de la cour de l'école. Saches que je vous serais éternellement reconnaissant. Tu as su m'entourer d'attention, m'inculquer les valeurs nobles de la vie, m'apprendre le sens du travail, de l'honnêteté et de la responsabilité. Merci d'être toujours là pour moi, un grand soutien tout au long de mes études. En témoignage de brut d'années de sacrifices, de sollicitudes, d'encouragement et de prières. Pourriez-vous trouver dans ce travail le fruit de toutes vos peines et tous de vos efforts. Des mots ne pourront jamais exprimer la profondeur de mon respect, ma considération, ma reconnaissance et mon amour éternel. Ce travail est ton œuvre, toi qui m'a donné tant de choses et tu continues à le faire...sans jamais te plaindre. J'aimerais pouvoir te rendre tout l'amour et la dévotion que tu nous offres, mais une vie entière n'y suffit pas. J'espère au moins que cette mémoire y contribuera en partie... ?

A ma très chère Mère **Salimata DOUMBIA**

La plus douce et la plus merveilleuse de toutes les mamans. Toi qui m'as tout donné sans compter. Aucun hommage ne saurait transmettre à sa juste valeur : l'amour, le dévouement et le respect que je porte pour toi. Sans toi je ne suis rien, mais grâce à toi je deviens pharmacien. Tu as été là pour moi du début jusque-là. Ton encouragement, tes conseils ont toujours été mes armes de combat. Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. J'implore Dieu qu'il te procure la santé et qu'il m'aide à te compenser tous les malheurs passés. Pour que plus jamais le chagrin ne pénètre ton cœur, car j'aurais encore besoin de ton amour.

Je te dédie cette thèse qui concrétise ton rêve le plus cher et qui n'est que le fruit de tes conseils et de tes encouragements. Tu n'as pas cessé de me soutenir et de m'encourager, ta générosité exemplaire et ta présence constante ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui. J'espère que tu trouveras dans ce modeste travail un témoignage de ma gratitude, ma profonde affection et mon profond respect. Je n'espère ne jamais te décevoir, ni trahir ta confiance et tes sacrifices.

Puisse Dieu tout puissant te protéger du mal, te procurer longue vie, santé et bonheur afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois.

Je t'aime maman

A ma tendre mère **Ramatou FOMBA**

Tu as toujours été ma force de combat chère mère ; un repère pour moi à chaque fois que je perdais le contrôle. Ma douce maman, je ne pourrai te remercier autant, car les mots ne suffisent pas pour exprimer ma gratitude à ton égard. Qu'Allah te donne une longue vie pour que tu puisses te reposer longtemps sous l'ombre de tes innombrables sacrifices. Une fois de plus merci ma précieuse Maman.

A ma grande sœur Korotoumou, mes petits frères et sœurs Adama, Awa, Djenebou, Alpha, Aminata, Adiarratou, Niakoro dite Wayo, Lassana

Merci pour vos soutiens inconditionnels, sachez que je vous tiendrai toujours dans le cœur.

Je ne saurai traduire sur du papier l'affection que j'ai pour vous. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon amour et mon attachement. Puisse nos fraternels liens se pérenniser et consolider encore.

Remerciements

Je rends grâce

A Allah

Le Clément, le créateur des cieux et de la terre, le tout miséricordieux, par la grâce de qui je suis parvenu au bout de ce travail.

Mes remerciements vont à l'endroit de :

Mes totons (Gaoussou, Yaya, Zoumana, Bourama)

Vos soutiens moraux m'ont toujours été indispensables durant ces travaux. Chers tonton recevez ma profonde gratitude.

Mes tantes (Bintou, Aminata)

Je vous serai reconnaissant pour tout ce que vous m'avez fait. Merci pour vos innombrables conseils et sachez que cette mérite est la vôtre.

Mes confidentes mamans de la famille maternelle

Maman **Mariam, Rokia, Matou, Hawa, Mâh DOUMBIA** pour m'avoir montré le chemin de la réussite. C'est pourquoi je tiens particulièrement à mentionner vos noms respectifs dans cette thèse.

Dr Adama Bréhima DIARRA

Un pharmacien de qualité hors norme, qui m'a toujours montré la voie de la sagesse. Vous avez été une source d'inspiration pour moi. Chère tonton vous êtes un repère pour moi, un formateur par excellence. Merci pour tout ce que vous avez fait pour ma réussite et votre encadrement. Permettez-moi de vous exprimer toute ma gratitude.

Mon oncle Mahamadou DOUMBIA

Pour sa générosité, sa sympathie en mon endroit. Tu resteras mon repère dans la vie. Tu m'as donné le meilleur de toi pour que je puisse atteindre à mes objectifs. Merci mon cher oncle et je prie Dieu pour que tu puisses vivre le plus longtemps possible avec nous. Que l'éternel te bénisse.

Ma grande mère paternelle Feu Rokia dite Boliba FOMBA

Ma joie allait être plus immense si tu étais là à assister à ma réussite hélas Dieu en a décidé autrement. Tu m'as toujours aimé durant ton existence, joué aussi le rôle de mère pour moi. Chère grande mère saches que je regretterai à vie ta disparition car tu es partie en récitant mon nom. Que le tout puissant t'accorde son pardon et son paradis.

Mon grand-père Feu Youssouf Dogomi

Cher grand-père tu resteras dans ma mémoire à vie car tu as été l'acteur principal de ma scolarisation. Merci pour ton amour et l'éducation exemplaire.

Mes amis Cheick Oumar TRAORE, Abdoulaye SAMAKE, Salif NIAMBELE, Soumaila SAMAKE, Fafré DOUMBIA, Souleymane KABA, Mohamed A NANTOUME, Oumar MANSIE, Siaka SAMAKE, Mamadou SIDIBE, Zoumana DOUMBIA, Dramane SIDIBE, Nouhoum SAMAKE, Issa DIARRA, Alou COULIBALY, Yacouba NIANGALY, Souleymane DIAWARA.

Merci pour votre soutien et franche collaboration.

A tous les personnels de la pharmacie Massaman KEITA (Bamako) et ainsi qu'à ceux de la pharmacie Officine Djitoumou Santé (Ouelessebouyou)

Recevez mes sincères remerciements et ma profonde gratitude.

Tous mes maîtres

Chers maîtres la récompense de votre métier ne sera jamais à sa juste valeur car avoir la connaissance est un don inné mais la partager est un art qui n'a pas de prix. Merci pour vos enseignements.

Professeur Bourèma KOURIBA

Chers maître, merci de m'avoir accepté au CICM pour l'encadrement de ma thèse, vous m'avez honoré en acceptant de piloter ce travail. Votre grand souci a toujours été que nous vos étudiants ne manquions rien au CICM pour la bonne réussite de nos différentes thèses. Recevez mes remerciements pour tout.

Docteur Lassina Gadi TIMBINE

Cher maître vous m'avez accueilli dans votre laboratoire à bras ouvert, accordé aussi une formation de qualité pendant ce travail. Votre soutien a toujours été sans faille à mon égard. Merci pour tout et que Dieu puisse vous en récompenser.

Docteur Abdoul Karim SANGARE

Cher maître votre sagesse vous fait un homme aux qualités exceptionnelles. Votre professionnalisme me sera sûrement un repère dans ma vie professionnelle. Le courage et la patience de l'encadrement ne sont pas donnés à tout le monde. Je vous en serai reconnaissant.

Tout le personnel de Laboratoire Rodolphe MERIEUX

Travailler et apprendre à vos côtés m'a été une faveur. Merci pour votre accompagnement.

Mes camarades de thèse

Mamadou SIDIBE, Zié Seydou SANOGO, Mohamed Haguibou DIALLO, Hawa SYLLA, Moussa BA.

Ce fut un plaisir de partager ce bon moment avec vous. Merci pour votre collaboration et soutien moral.

HOMMAGE AUX MEMBRE DU JURY

A notre Maître et président du jury

Professeur Yacouba TOLOBA

- **Professeur Titulaire de pneumo-physiologie à la FMOS ;**
- **Spécialiste en allergologie ;**
- **Chef de service au CHU du Point G ;**
- **Chef de DER de Médecine et spécialités médicales (Département des Etudes et de Recherche).**

Cher maître

La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de présider ce jury malgré vos multiples occupations, prouve votre amour pour la science.

Votre rigueur scientifique, votre sens du travail bien fait font de vous un maître admiré et respecté

Quel honneur pour nous de vous avoir comme Président de notre Jury. Que Dieu vous comble de grâces

A notre Maître et juge

Docteur Mohamed Ag BARAIKA

- **Pharmacien Microbiologiste,**
- **Maître-Assistant en Bactériologie-Virologie à la Faculté de Pharmacie,**
- **Enseignant-Chercheur au Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose (CRLD)**

Cher maître

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail.

La qualité de votre contribution fut précieuse et inestimable pour parfaire ce travail.

Trouver ici, cher maître, l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre maîtresse et juge

Docteur Elisabeth SOGODOGO

- **Docteur en pharmacie**
- **PhD en biologie santé-spécialité maladie infectieuse**
- **Chercheuse au CICM (Centre d'Infectiologie Charles MERIEUX)**

Cher maître

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail.

Votre désir profond de valoriser la profession fait de vous une Dame respectable.

Trouver ici, cher maitre, l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et co-directeur de thèse

Docteur Abdoul Karim SANGARE

- **Docteur en Médecine,**
- **PhD en Pathologie Humaine, Maladies Infectieuses**
- **Responsable de l'Unité des pathogènes Emergents et Ré-émergents du Centre d'Infectiologie Charles MERIEUX (CICM) Mali,**

Cher maître

Tout au long de ce travail, nous avons apprécié vos qualités humaines et scientifiques.

Votre disponibilité constante et votre amour pour le travail bien fait font de vous un maitre respectable.

Permettez-nous cher maitre de vous adresser l'expression de notre immense gratitude et de notre sincère remerciement.

A notre Maître et directeur de thèse

Professeur Agrégé Bourèma KOURIBA

- **Maître de conférences Agrégé en immunologie à la faculté de Pharmacie,**
- **Chef de l'unité d'Immunologie Cellulaire et Moléculaire du MRTC/DEAP,**
- **Directeur Général du Centre d'Infectiologie Charles MERIEUX (CICM).**

Cher maître

Vous nous avez fait un immense honneur en nous acceptant dans votre équipe de recherche médicale. Tout au long de ce travail nous avons apprécié vos grandes qualités scientifiques et humaines, vos enseignements et surtout votre sens élevé de la responsabilité et de la rigueur dans le travail font de vous un exemple à suivre. Cher Maître veuillez recevoir en toute modestie l'expression de notre immense gratitude.

Sigles et abréviations

ADN : Acide Désoxyrinucléide

AdV : *Adénovirus*

ARN : Acide Ribonucléide

ASACOYIR : Association de Santé Communautaire de Yirimadio

C. pneu : *Chlamydia pneumoniae*

CCA: Chimpanze Coryza Associated

CCC : Communication pour le Changement de Comportement

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CICM : Centre d'Infectiologie Charles MERIEUX

CPN : Consultation Périnatale

CSCoM: Centre de Santé Communautaire

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra acétique

EVs : *Entérovirus*

GCP : Good Clinical Practices

HBoVs : *Bocavirus* humain

HCoV : *Coronavirus* humain

HDM : Hôpital Du Mali

HIB : *Haemophilus influenza* de type B

hMPV : *Métapneumovirus* humain

HPeV : *Parechovirus* Humain

ICTV: International Committee on Taxonomy of Viruses

IFVs : *Influenza Virus*

IPB : Institut de Biologie des Pathogènes

LBA : Lavage Broncho-alvéolaire

LMR : Laboratoire Rodolphe MERIEUX

M. pneu : *Mycoplasma pneumoniae*

MERS-cov: Middle East Respiratory Syndrome *coronavirus*

MRC-5 : ligné de cellule de type fibroblaste embryonnaires humains obtenu à partir d'un unique fœtus avorté en 1966.

MRTC: Malaria Research and Training Center

MSHP-Mali : ministère de la santé et de l'hygiène publique

MVE : Maladie à Virus Ebola

NC : Contrôle Négatif

NFS : Numération de Formule Sanguine

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie

PBMCs : Cellule mononuclées du sang périphérique

PF : Planning Familial

PIVs : *Para influenza* virus

RSV : Virus Respiratoire syncytial

S. aur : *Staphylococcus aureus*

S. pneu : *Streptococcus pneumoniae*

SARS : syndrome respiratoire aigu sévère

SDRA: Syndrome de Détresse Respiratoire aigue

TROD : Test Rapide d'Orientation Diagnostique

URENI : Unité de Rétablissement et de l'Education Nutritionnelle Intensive

La liste des tableaux

Tableau I : Classification des virus impliqués dans les pathologies respiratoires selon leur génome	26
Tableau II : Les virus respiratoires et leurs pathologies respectives	28
Tableau III : Les différents types d'infections respiratoires	28
Tableau IV : Volumes de Buffer AL et Carrier RNA-Buffer AVE mix requis pour la procédure QIAamp Minute Virus Spin	52
Tableau V : données démographiques et taux de détection	58
Tableau VI : Répartition des patients selon le sexe	59
Tableau VII : Répartition des patients selon le taux de positivité.....	59
Tableau VIII : Co-détection d'agents pathogènes respiratoires.....	61
Tableau IX : Répartition des virus et leurs sous-types.....	62
Tableau X : Taux de détection mensuelle.....	63
Tableau XI : Répartition du nombre de cas positif et du taux de détection selon la tranche d'âge	66
Tableau XII : Répartition des nombres de cas et des taux de détection des sérotypes de streptococcus pneumoniae identifiés.....	68
Tableau XIII : Sous-groupes du virus respiratoire <i>syncytial</i>	69

La liste des figures

Figure 1 :schéma du cycle de multiplication d'un virus (18).....	29
Figure 2 : schéma illustrant la diversité des symptômes de la COVID-19 ou pneumonie de Wuhan (49).....	41
Figure 3 : Schéma organisationnel de la collecte et détection des échantillons.....	50
Figure 4 : Image de l'automate CFX 96 Source : C.I.C.M	56
Figure 5 :Fréquence d'isolement des germes.....	59
Figure 6 : Détection de pathogènes respiratoires dans les échantillons prélevés à l'hôpital du Mali.....	60
Figure 7 : Détection de pathogènes respiratoires dans les échantillons prélevés au CSCom de Yirimadio.....	60
Figure 8 : Distribution saisonnière des pathogènes détectés dans les 2 structures.....	64
Figure 9 : Distribution mensuelle des pathogènes respiratoires et leur taux de détection selon la structure.....	65
Figure 10 : Répartition des cas positifs et du taux de détection selon la tranche d'âge et par structure	67

Sommaires

DEDICACE	10
Remerciements.....	11
HOMMAGE AUX MEMBRE DU JURY	13
Sigles et abréviations	16
La liste des tableaux.....	18
La liste des figures	18
1. INTRODUCTION	22
2. Objectifs.....	23
2.1. Objectif général.....	23
2.2. Objectifs spécifiques	23
3. GENERALITE.....	24
3.1 Définition	24
3.2. Historique.....	25
3.3. Description du virus et caractéristiques biologiques communes des virus	25
3.4. Classification des virus	25
3.4.1. Selon l'organisme parasité	25
3.4.2. Selon leur mode de transmission.....	26
3.4.3. Principaux agents étiologiques dans les infections pulmonaires bases	27
3.5. Multiplication virale.....	29
3.6. Grippe	30
3.6.1. Définition	30
3.6.2. Epidémiologie : sur le plan mondial	30
3.6.3. Agents pathogènes	30
3.6.4. Symptomatologie	30
3.6.5. Diagnostic virologique	30
3.6.6. Traitement	31
3.7. Famille des <i>paramyxoviridae</i>	32
3.7.1. Virus respiratoire syncytial (VRS).....	32
3.8. Coronaviridae.....	35
3.8.1. MERS-Cov (Middle East Respiratory syndrome Coronavirus).....	35
3.8.2. Syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS)	37
3.8.3. Nouveau coronavirus : Covid-19	39
3.9. Rhinovirus.....	42
3.9.1. Définition	42
3.9.2. Epidémiologie	42

3.9.3. Agent pathogène	43
3.9.4. Symptomatologie	43
3.9.5. Diagnostic biologique	43
3.9.6. Traitement	44
4. Méthodologie	45
4.1. Cadre d'étude	45
4.1.1. Hôpital du Mali	45
4.1.2. Centre de Santé Communautaire(CSCom) de Yirimadio	45
4.1.3. Centre d'Infectiologie Charles Mérieux(CICM).....	46
4.2. Type et période d'étude.....	47
4.3. Population d'étude	47
4.3.1. Critères d'inclusion	47
4.3.2. Critères de non -inclusion	48
4.3.3. Echantillonnage.....	48
4.4. Collecte des données	48
4.5. Variables mesurés	48
4.6. Méthodes.....	49
4.6.1. Recrutement de sujets de l'étude.....	49
4.6.2. Définition de cas	49
4.6.3. Méthode clinique.....	49
4.6.4. Traitement, et stockage des échantillons.....	49
4.6.5. Prélèvement naso-pharyngé	50
4.6.6. Traitement des échantillons	51
4.6.7. Protocole d'extraction des acides nucléiques avec le kit QIAGEN	51
4.6.8. Technique d'amplification à l'aide de l'automate CFX96.....	55
4.7. Considérations éthiques	56
4.8. Saisie et analyse des données.....	57
5. Résultats.....	58
5.1. Résultats globaux	58
5.2. Résultats descriptifs	58
5.2.1. Description sociodémographique.....	58
5.2.2. Fréquence d'isolement des pathogènes dans les 2 structures cumulées.....	59
5.2.3. Fréquence d'isolement des pathogènes selon la structure.....	60
5.2.4. Distribution des pathogènes par produit pathologique.....	61
5.2.5. Distribution des virus détectés et leurs sous-types.....	62
5.2.6. Distribution mensuelle des pathogènes au cours de l'année	63

5.2.7. Distribution des pathogènes détectés selon la saison	63
5.2.8. Distribution mensuelle de cas positifs et le taux de détections des pathogènes	65
5.2.9. Distribution des taux selon la tranche d'âge	66
5.2.10. Distribution des cas et du taux de détection selon la tranche d'âge et la structure	67
5.2.11. Distribution des sérotypes de <i>Streptococcus pneumoniae</i> isolés dans les 2 structures	67
5.2.12. Distribution des sous-groupes de virus respiratoire syncytial détectés dans les deux structures	69
5.3. Discussion	70
5.3.1. Le taux de détection des agents pathogènes sur la population d'étude	70
5.3.2. Fréquence de détection des agents pathogènes selon par tranche d'âge	71
5.3.3. Fréquence de détection des agents pathogènes selon le sexe	71
5.3.4. Fréquence de détection des agents pathogènes selon le mois	71
5.3.5. Taux de détection saisonnière des agents pathogènes.....	72
5.3.6. Fréquence de détection des agents pathogènes respiratoires.....	72
5.3.7. La fréquence de distribution des virus identifiés	73
6. Conclusion et recommandations	74
6.1. Conclusion	74
6.2. Recommandation	75
8. Annexes.....	80
9. Fiche Signalétique.....	86
Serment de Galien.....	88

1. INTRODUCTION

Les maladies virales respiratoires constituent un enjeu majeur de santé publique du fait de leur incidence sur le plan mondial, la facilité de dissémination dans la communauté avec une mortalité et morbidité significative. Leur pronostic est potentiellement mauvais selon leur localisation au niveau de l'arbre respiratoire. Leur issue sur un terrain fragilisé impose une prise en charge en milieu hospitalier(1). Des efforts ont été consentis pour vaincre ces maladies dans le monde. Cependant, ces progrès sont atténués par l'émergence ou la réapparition de certaines maladies infectieuses. Les épidémies dues au syndrome respiratoire aigu sévère (SARS) en 2003 en Asie du Sud-Est (2) et la maladie à virus Ebola (MVE), en particulier en Afrique de l'Ouest en 2014 (3). Selon la statistique de l'organisation mondiale de la santé en 2011 sur les 15 millions de décès dus aux maladies infectieuses, 4,3 millions sont causés par des infections respiratoires (4). En raison de la multitude des agents pathogènes concernés, qui agissent souvent en synergie (la co-infection des virus avec les bactéries) ou dans des agencements divers, la lutte contre les infections aiguës des voies respiratoires présentent davantage de complexité que pour nombre d'autres maladies. A signaler aussi qu'il y a des maladies respiratoires qui ne sont pas d'origine virale comme la coqueluche, et la pneumonie (5).

Parmi les maladies infectieuses, celles qui affectent les voies respiratoires sont les plus fréquentes et sévères dans les régions tropicales. Elles tuent plus d'enfants et de sujets âgés dans les pays en développement que dans d'autres parties du monde. Elles sont souvent mal diagnostiquées, non traitées avec précision et n'ont pas de vaccins. Avec plus de 4 millions de morts, les infections des voies respiratoires inférieures sont responsables de 7,1% des décès dans le monde et de 11,2% des décès dans les pays à faible revenu. En 2015, 15% des décès chez les enfants de moins de cinq ans étaient dus à une infection respiratoire aiguë (6). Cette mortalité est estimée à 200 000/an en priori dans les pays en développement avec un taux d'hospitalisation d'environ 30 à 40%. Cependant, chez les enfants de moins de 5 ans on peut enregistrer 700 000 à 1 million de décès (7). Ces dernières années, les virus *influenza* et précisément le virus pandémique H1N1 apparu en 2009 a été l'objet d'étude d'un point de vue structurale et épidémiologique. Les méthodes de diagnostic viral ont considérablement évolué avec l'arrivée des techniques de biologie moléculaire, en particulier des tests moléculaires dits «multiplex» assurant l'identification simultanée d'important nombre d'agents infectieux (1). Les *coronavirus* humains (HCoV), les *rhinovirus* humains (HRV) et les *adénovirus* (ADV) sont couramment impliqués dans les infections des voies aériennes supérieures associées à une bronchite. Les virus *influenza* A, B ; *para-influenza* et le virus respiratoire syncytial (VRS) sont plutôt à l'origine d'une bronchite prédominante (8) .

Et plus récemment, le SARS-CoV-2, un nouveau *coronavirus* (CoV) humain ; a émergé en Chine fin 2019 et est responsable de la pandémie mondiale de Covid-19 qui a causé plus de 540 000 décès

en six mois. La compréhension de l'origine de ce virus est une question importante et il est nécessaire de déterminer les mécanismes de sa dissémination afin de pouvoir se prémunir de nouvelles épidémies (9).

Cependant il existe des données très limitées sur les infections des voies respiratoires virales émergentes et ré-émergentes au Mali. Il existe relativement peu de rapports sur l'association entre les virus et les maladies des voies respiratoires. La plupart des études ont investigué l'association entre les bactéries et l'infection des voies respiratoires. Une méta-analyse des études publiées en 2004 a suggéré que près de 1% (998 pour 100.000) de tous les enfants de Bamako âgés de moins de 1 an sont admis chaque année pour les infections respiratoires aiguës (10). A notre connaissance, aucune étude n'a évalué le spectre des virus associés à l'infection des voies respiratoires. Ainsi, le but de notre travail était d'étudier la diversité des virus associés aux infections des voies respiratoires et leurs profils épidémiologiques en utilisant les outils moléculaires.

2. Objectifs

2.1. Objectif général

Etudier la diversité des virus et des bactéries associés aux infections des voies respiratoires.

2.2. Objectifs spécifiques

- 1) Identifier les virus et les bactéries associés aux infections respiratoires au Mali
- 2) Déterminer la fréquence des virus et des bactéries associés aux infections des voies respiratoires au Mali.
- 3) Caractériser la dynamique de la diversité des virus isolés.
- 4) Déterminer la variation saisonnière des virus et des bactéries infectants les voies respiratoires chez les enfants et les adultes au Mali.

3. GENERALITE

3.1 Définition

➤ Virus

Selon le médecin biologiste français André Lwoff, les virus sont infectieux et potentiellement pathogènes ; ce sont des entités nucléoprotéiques possédant un seul type d'acide nucléique (ARN ou ADN) ; leur reproduction est intracellulaire à partir de leur matériel génétique. Ils sont incapables de croître et de se diviser ; ils sont dépourvus de système de Lipman. De cette définition, se dégagent donc cinq critères permettant de différencier un virus d'un autre organisme vivant :

- Un virus contient un seul type d'acide nucléique ;
- Le virus se reproduit à partir de son seul acide nucléique ;
- Le virus est incapable de croître et de subir des divisions binaires ;
- Le virus ne possède aucune information génétique concernant les enzymes du métabolisme intermédiaire producteur d'énergie ;
- La multiplication du virus nécessite l'utilisation des structures de la cellule hôte et plus spécialement de ses ribosomes ;

Aujourd'hui la définition du virus est plus précise, nous parlons alors de virion qui est l'unité structurale du virus composé d'une boîte protéique appelée capsid, d'une molécule d'acide nucléique constituant son génome et, dans certains cas, d'une enveloppe(11).

➤ Génome viral

Un virus comporte toujours un génome qui est de l'ADN ou de l'ARN. C'est d'ailleurs le premier élément pris en considération dans la classification des virus. La connaissance de la nature du génome, ADN ou ARN, intervient aussi pour comprendre les mécanismes de variabilité génétique et le mode d'action de la chimiothérapie antivirale. Ce génome est monocaténaire ou bicaténaire. La diversité des génomes viraux est le principal caractère qui définit la diversité des virus d'où les différentes classes cités ci-dessous

- ARN monocaténaire : majorité des virus à ARN, peut-être à polarité positive (+) (même polarité que ARNm) ou à polarité négative (-),
- ARN bi caténaire : exceptionnel : *Rétrovirus- Rotavirus*.
- ARN segmenté : virus de la grippe.
- ADN bicaténaire : majorité des virus à Adn.
- ADN monocaténaire : exceptionnel : *Parovirus* (12)

➤ Les voies respiratoires

L'appareil respiratoire est constitué : des voies aérifères supérieures ; les voies aérifères inférieures (l'arbre bronchique) ; les poumons ; la plèvre et les muscles inspiratoires (diaphragme et les autres

muscles de la cage thoracique). Ces organes sont situés dans le thorax et sont reliés par la trachée avec les voies aériennes supérieures (nez-bouche, larynx et une partie de la trachée). Ils forment avec ces dernières l'appareil respiratoire(13).

3.2. Historique

La première mention du mot virus, du latin poison, est attribuée au poète antique Virgile. Il désignait ainsi « un liquide sanieux et purulent » (« distillat ab inguine virus » - Les Géorgiques, I.III, V.281). Le sens de ce mot a par la suite progressivement évolué au gré des avancées scientifiques. Le concept de virus dans son acception moderne émergea à la fin du dix-neuvième siècle. Les scientifiques Adolph Mayer, Dmitrii Iwanowski et Martinus Beijerinck recherchaient alors l'agent responsable de la maladie de la mosaïque du tabac. Leurs travaux contribuèrent, de manière inégale mais complémentaire, à la mise en évidence d'un nouvel agent infectieux, ultra filtrable et transmissible à des plants de tabac sains. L'agent invisible au microscope, fut dénommé « Contagium vivum fluidum » par Beijerinck. Le virus de la mosaïque du tabac ou TMV venait en réalité d'être identifié et cette découverte en 1892 ou 1898, suivant qu'elle soit attribuée à Iwanowski ou plus volontiers à Beijerinck, marqua la naissance de la virologie (14).

3.3. Description du virus et caractéristiques biologiques communes des virus

Du point de vue structurale, les virus possèdent deux ou trois éléments. A l'intérieur de l'hôte, c'est une structure acellulaire, incapable d'effectuer seule le moindre métabolisme. Sur le plan médical, les virus une fois à l'intérieur de l'hôte, se prolifèrent comme les bactéries, les mycètes et les protozoaires en devenant très actifs. Du point de vue clinique on considère qu'ils sont vivants.

Ces micro-organismes font partie d'un groupe très hétérogène constitué de 80 familles et 400 espèces. La différence se situe au niveau de leur forme, leur génome et leur mode de multiplication.

3.4. Classification des virus

David Baltimore a proposé une classification qui sépare les virus quel que soit leur hôte (animal, végétal, champignon, algue, procaryote) qui correspondent chacun à un type d'acide nucléique et à un schéma de réplication. Elle est retenue comme la base de la taxonomie virale.

On a adapté une classification des virus.

3.4.1. Selon l'organisme parasité

- Les bactériophages ou phages ou encore virus des bactéries
- Ceux des végétaux
- Les virus des animaux parmi lesquels on rencontre les virus infectants l'être humain

3.4.2. Selon leur mode de transmission

- Virus transmis par les voies respiratoires ;
- Les virus entériques
- Ceux transmis par les arthropodes : les *arbovirus*.

A l'heure actuelle, les critères essentiels utilisés en taxonomie sont :

- Le type de génome viral et son organisation
- La stratégie de réplication virale ;
- La structure de la particule virale(12)

Tableau I : Classification des virus impliqués dans les pathologies respiratoires selon leur génome

A- Les virus à ADN		
Virus à ADN bicaténaire (double brin)		
Famille « viridae » Et sous-famille «virinae»	Genre	Exemples
Adenoviridae	Mastadenovirus	Adenovirus humain
Virus à ADN monocaténaire (simple brin)		
Famille des Parvoviridae	Non assigné à une famille <i>Anellovirus</i>	<i>Parvovirus B19</i>
B- les virus à ARN		
1- Virus à ARN monocaténaire		
a) Génome ARN à polarité positive		
Coronaviridae	Alphacoronavirus	Coronavirus humain 229E (HCoV-229 E) Coronavirus humain NL69 (HCoV-NL69)
	Betacoronavirus	Coronavirus humain OC 43 (HCoV-OC 43)
		Coronavirus humain HKU1 (HCoV-HKU1)
		SARS coronavirus (SARS-CoV)

		MERS coronavirus (MERS-CoV)
Picornaviridae	Enterovirus	Coxsackievirus A et B (CVA et CVB) Echovirus (ECV)
	Rhinovirus	Rhinovirus (>100 types)
b) Génome ARN à polarité négative, non segmenté (Mononegavirus)		
Paramyxoviridae		
Paramyxovirinae	Respirovirus	Virus parainfluenzae types 1 et 3
	Rubulavirus	Virus des oreillons Virus parainfluenzae types 2 et 4 a, b
Pneumovirinae	/ pneumovirus	Virus respiratoire syncytial (RSV)
	Metapneumovirus	Metapneumovirus humain (HMPV)
c) Génome ARN monocaténaire à polarité négative, segmenté		
Orthomyxoviridae	Influenzavirus A	Influenzavirus A (FLUAV)
	Influenzavirus B	Influenzavirus B (FLUBV)
+	Influenzavirus C	Influenzavirus C (FLUCV)

Ce tableau fait ressortir une classification des virus selon leur génome respectif (15).

3.4.3. Principaux agents étiologiques dans les infections pulmonaires bases

Les infections respiratoires virales constituent un autre aspect non négligeable des infections broncho-pulmonaires. Le tableau ci-dessous détaille les virus et les bactéries responsables des différents tableaux cliniques des infections respiratoires.

Tableau II : Les virus respiratoires et leurs pathologies respectives

Syndrome	Agents infectieux
Bronchiolite	VRS, hMPV, PIV, adénovirus, coronavirus, virus influenza, Chlamydomydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, rhinovirus, bocavirus
EA-BPCO/ Asthme	VRS, hMPV, rhinovirus, adénovirus, PIV, coronavirus, virus influenza, Chlamydomydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, bocavirus,
Croupe	PIV, virus influenza, adénovirus
Pneumonie	Virus influenza, Streptococcus pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, PIV, adénovirus, VRS, hMPV, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus
Pneumonie sur greffe	VRS, PIV, virus influenza, hMPV ; adénovirus, rhinovirus

D'autres virus peuvent être incriminés dans ces différents syndromes cités dans ce tableau(1)

Tableau III : Les différents types d'infections respiratoires

Infections respiratoires hautes	Infections respiratoires basse
Rhinites	Bronchite
Rhinopharyngites aigue	Bronchiolite aigue
Otite moyenne aigue	Crise d'asthme
Angine aigue	Pneumopathies aigues communautaires
Laryngite aigue	

Les infections respiratoires hautes sont situées au-dessus des cordes vocales. L'auscultation est toujours normale tandis que le diagnostic de l'infection respiratoire basse de l'enfant est avant tout clinique. Des examens complémentaires (Radiographie, NFS, CRP) ne sont indiqués qu'en cas de suspicion de pneumonie ou en présence de facteur de risque (16).

3.5. Multiplication virale

Le cycle d'infection d'une cellule par un virus peut être décomposé en trois grandes étapes :

- **L'attachement** ; la **pénétration** et la **décapsidation** qui aboutissent à l'internalisation du germe viral dans la cellule cible.
- **L'expression des gènes et la réplication** : qui assurent respectivement la synthèse des protéines codées par le génome viral et vont permettre la multiplication de ce génome.
- **L'assemblage** et la **libération** (sortie) des particules virales : qui vont mener à la production et la libération de particules virales infectieuses, capables de propager l'infection à d'autres cellules.

Il existe, classiquement, trois types de cycles viraux : **cycle lytique**, **cycle lysogénique** et **chronique**. Le cycle viral va avoir un effet important sur la croissance de l'hôte infecté, et être ainsi impliqué dans la régulation des populations microbiennes (17).

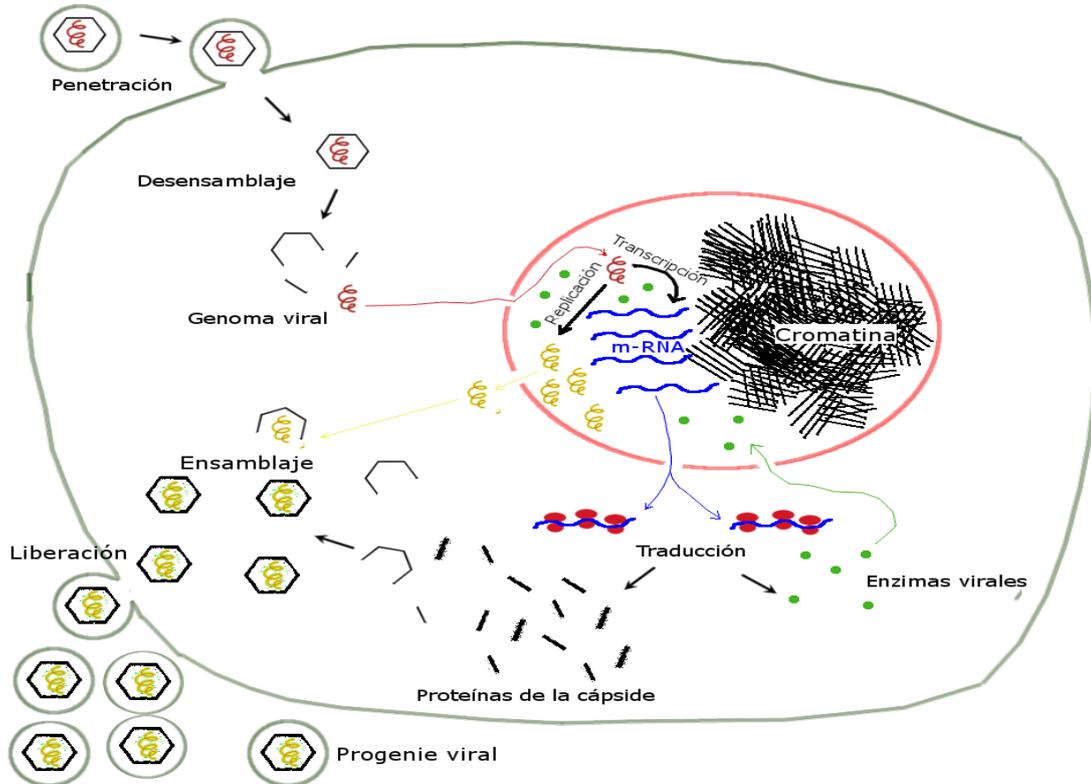


Figure 1 :schéma du cycle de réplication du SARS-CoV-2 (18)

3.6. Grippe

3.6.1. Définition

La grippe est une maladie infectieuse à tropisme respiratoire due au virus *influenzae*. Il s'agit d'une pathologie aigüe évoluant sur un mode épidémique voire pandémique. En règle générale, elle est bénigne chez les patients jeunes sans comorbidités avec une évolution des symptômes sur quelques jours. En revanche, dans les âges extrêmes de la vie avec ou sans comorbidités, la grippe peut évoluer vers des formes graves nécessitant une hospitalisation en service de Réanimation ou de soins intensifs (19).

3.6.2. Épidémiologie : sur le plan mondial

Dans les pays tropicaux, la grippe peut survenir tout au long de l'année. Dans le monde, la grippe touche chaque année 20% des enfants et 5% des adultes. Elle serait responsable de 250000 à 500000 décès lors des épidémies et 3 à 5 millions de personnes seraient touchées. Dans les pays industrialisés, ce sont les plus de 65 ans qui décèdent le plus (20).

3.6.3. Agents pathogènes

La grippe est une affection virale due à un virus respiratoire : le virus *influenza*. Il appartient à la famille des orthomyxoviridae (Myxovirus A, B et C), sa cible anatomique est l'arbre trachéo-bronchique et il touche plusieurs espèces : les oiseaux, les porcs et l'être humain. La particule virale est sphérique et mesure 80 à 120 nanomètres de diamètre. Il s'agit d'un virus à ARN monocaténaire divisé en 8 brins. Les 8 molécules sous forme de nucléocapside hélicoïdale sont contenues dans une enveloppe virale (virus enveloppé) présentant des nucléoprotéines de surface déterminant l'antigénicité du virus : *influenza* A, B ou C (peu pathogène, asymptomatique) (21).

3.6.4. Symptomatologie

D'après les premières observations, les symptômes de la grippe pandémique sont relativement similaires à ceux de la grippe saisonnière classique : les signes généraux sont trouvés au premier plan de la présentation clinique à savoir fièvre, asthénie, début brutal, myalgie, frissons, courbatures, l'atteinte des voies respiratoires est quasiment systémique : toux, expectorations, atteintes des voies aériennes supérieures. L'évolution est brève et bénigne le plus souvent avec régression de la fièvre en 2 à 4 jours. L'interrogatoire et l'examen clinique du patient ne permettent pas de distinguer la grippe A (H1N1) de la grippe saisonnière ou même des autres viroses respiratoires (22).

3.6.5. Diagnostic virologique

Le diagnostic de la grippe saisonnière est avant tout clinique pendant la période de circulation virale. Mais il s'avère impossible de confirmer une grippe en fonction de la clinique puisque les

autres virus de la voie respiratoire sont eux même responsables des syndromes grippaux. L'examen biologique ne doit cependant pas retarder la mise en place d'un traitement antiviral lorsque celui-ci est indiqué. Le prélèvement est réalisé au niveau des voies aériennes supérieures par écouvillonnage nasal ou nasopharyngé, par lavage ou aspiration nasal ou nasopharyngé. Les méthodes diagnostiques sont les suivantes :

- La RT-PCR : Il s'agit de la méthode de référence pour le diagnostic biologique de la grippe du fait de sa sensibilité et de sa spécificité élevée. Elle détecte les ARN viraux et permet d'identifier le type de grippe (A ou B) et éventuellement son sous-type. L'inconvénient de ce test est son cout et sa réalisation en laboratoire de biologie médicale spécialisé avec un délai de rendu de quelques heures minimum.
- L'immunofluorescence indirecte : Elle détecte des antigènes viraux grâce à des anticorps monoclonaux. Cette méthode est rapide (en 2 ou 3 heures), peut couteuse et permet de déterminer le type de grippe. Cependant, sa sensibilité est parfois limitée. La performance de ce test dépend de l'expertise du laboratoire et de la qualité de l'échantillon prélevé. D'autre test sont envisageable :
- Le test rapide d'orientation diagnostique de la grippe ou TROD ;
- L'isolement virale sur culture cellulaire (23).

3.6.6. Traitement

Chez les adultes en bonne santé, le traitement de la grippe est essentiellement symptomatique. Des antiviraux peuvent également être utilisés et, dans les cas où la grippe se complique, un traitement par antibiotique peut être mis en place.

- **Traitement symptomatique :** Le traitement symptomatique de la grippe repose surtout sur les antipyrétiques et les antalgiques.
 - **Aspirine :** A ne pas utiliser chez l'enfant ni chez les personnes souffrant de maladies ulcéreuses gastro-duodénales ou de maladies hémorragiques ni les personnes sous AVK.
 - **Le paracétamol :** Très largement utilisé chez l'enfant. Ces molécules apportent un confort au patient et évitent l'apparition de complications liées à la fièvre chez l'enfant (convulsions fébriles).
- **Antiviraux contre la grippe :** Les antiviraux doivent être spécifiques et dénués de toxicité. Leur action doit être rapide et efficace vis-à-vis des différents types et sous-types de virus grippaux circulants ou susceptibles d'émerger. En théorie, tous les constituants du virus essentiel à la multiplication virale sont autant de cibles potentielles pour l'action d'antiviraux. Des antiviraux affectant chacune des trois principales phases de multiplication ont été développés. Les produits ayant reçu une autorisation de mise sur le marché sont :
 - L'amantadine
 - La rimantadine

- La ribavirine
- Le zanamivir
- l'oseltamivir (24).

3.7. Famille des *paramyxoviridae*

Dans cette famille nous avons :

- **VRS (virus respiratoire syncytial)**
- **Virus *para-influenza* (VIP)**
- ***Métapneumovirus* humain (hMPV)**

Du grec para « à côté de » et de myxa : “mucus”, les *paramyxovirus* sont des virus à ARN et font partie de l'ordre des Mononégavirales. Le groupe des *Paramyxoviridae* contient de nombreuses espèces de virus, même si la plupart d'entre eux semblent avoir une gamme d'hôtes étroite. Les génomes de cette famille contiennent un simple brin d'ARN de polarité négatif. Leur nucléocapside sont enveloppées sous forme d'hélices. Le virion a un aspect un peu pléiomorphe ou sphérique. La famille des *Paramyxoviridae* est divisée en deux sous-familles : les *Pneumovirinae* et les *Paramyxovirinae*. Les *Pneumovirinae*, subdivisés en *Pneumovirus* et *Métapneumovirus*, se distinguent des *Paramyxovirinae* par leurs nucléocapsides plus étroites. La sous-famille des *Paramyxovirinae*, quant à elle, comprend cinq genres : *Avulavirus*, *Henipavirus*, *Morbillivirus*, *Respirovirus* et *Rubulavirus* (25).

3.7.1. Virus respiratoire syncytial (VRS)

3.7.1.1. Définition

C'est en 1956 que l'équipe de Morris JA découvrit un agent responsable d'un sévère coryza chez le chimpanzé appelé agent du coryza du chimpanzé ou (CCA). L'année suivante, ce même agent fut retrouvé chez un enfant présentant le même type de symptômes par Chanock *et al.* (1957) qui proposeront son nom chez l'homme, le virus respiratoire syncytial, dû à sa capacité à former des syncytia, cellules polynucléées géantes. Ce n'est qu'en 1961 qu'il sera décrit en France par Breton lors d'une épidémie chez les prématurés (26).

3.7.1.2. Epidémiologie

En zone tempérées (Europe de l'Ouest, Amérique du Nord), les infections humaines à VRS évoluent sous formes d'épidémies hivernales annuelles. Chez les enfants hospitalisés, l'infection à VRS représente l'épidémie la plus importante. En France, les cas initiaux apparaissent le plus souvent en octobre ; l'épidémie est maximale en décembre pendant environ 4 semaines ; elle

s'étend sur une durée moyenne de 3 à 5 mois. Il y a quelques fois des épidémies à VRS tardives, débutant en novembre ou décembre, par exemple au cours des hivers 1999-2000 et 2004-2005. La survenue précoce de l'épidémie grippale, en novembre ou décembre, est souvent observée dans ces épidémies à VRS retardées. De rares infections à VRS s'observent au printemps ou en été ; elles sont cliniquement identiques à celles de l'hiver, et représentent peut-être la persistance du virus entre les épidémies. Il a été fréquemment observé une coïncidence entre les épidémies à VRS et celles à *Rotavirus*, mais la relation entre les deux est difficile à établir (27).

3.7.1.3. Agent pathogène

Le virus respiratoire syncytial (VRS) s'appelle ainsi en référence à *syncytium* (c'est-à-dire une cellule comprenant plusieurs noyaux). En effet, ce virus a un effet pathogène sur l'épithélium des voies respiratoires, produisant des fusions de cellules conduisant à des *syncytia*. Faisant partie de la famille des *Paramyxovirus*, c'est un virus enveloppé à ARN, monocaténaire non fragmenté et de polarité négative. Son génome encode 11 protéines dont deux sont non-structurelles. Deux glycoprotéines de l'enveloppe sont responsables de l'immunogénicité et de la pathogénicité : la protéine G et la protéine F. Il possède deux souches A et B, identifiées en 1985 grâce à des tests *in vitro* réalisés avec des anticorps monoclonaux dirigés contre les différentes protéines. La principale variation antigénique entre ces deux sous-groupes se situe sur la protéine G (28).

3.7.1.4. Symptomatologie

Différents virus respiratoires syncytiaux (VRS) causent différents symptômes et complications d'une personne à l'autre. Les signes et les symptômes de l'infection apparaissent généralement 4 à 6 jours après l'exposition au virus.

- Bronchite ou la trachéobronchite aiguë : elle se manifeste par une inflammation de l'arbre trachéobronchique et plus souvent d'origine virale (Virus respiratoire Syncytial, Virus influenza A et B, Virus para influenza). Cependant des bactéries sont responsables des poussées de surinfection des bronchites chroniques. Une toux fréquente parfois émetisante, en général plus nette en couchée que début caractérise cette entité.
- Bronchiolite aiguë du nourrisson : l'étiologie est presque exclusive : le virus Respiratoire Syncytial. Précédée par une infection des voies aériennes supérieures, la bronchiolite peut s'installer brusquement par une dyspnée impressionnante ; le thorax devient distendu, hypersonore, la respiration rapide et superficielle avec tirage sous et intercostal et balancement thoraco-abdominal. A l'auscultation il existe un sifflement avec quelques râles fins disséminés et des sibilants. L'auscultation à distance retrouve souvent un wheesing (29).

3.7.1.5. Diagnostic biologique

Aucun examen paraclinique n'est indiqué pour le diagnostic de bronchiolite. Il peut être discuté la réalisation d'une radiographie du thorax dans les formes graves ou en cas de recherche de diagnostic différentiels ainsi qu'une gazométrie dans les formes graves. Le diagnostic virologique est intéressant dans certains cas :

- Chez le nouveau-né afin d'éviter la réalisation d'examen complémentaires en milieu hospitalier ;
- Dans le cadre de la documentation épidémiologique ;
- Dans un but de cohorting en milieu hospitalier ;

Les tests virologiques permettant de mettre en évidence de VRS sont globalement les mêmes que ceux pour la grippe.

- La culture cellulaire : elle était longtemps le gold standard, comme pour la grippe. Elle est réalisée en général sur des cellules humaines type HEP-2 ou sur des fibroblastes d'origine pulmonaire. Elle présente les mêmes inconvénients que pour la grippe. C'est à dire qu'elle est longue et nécessite un laboratoire de virologie avec toutes les contraintes associées (milieu de transport adapté, sécurité etc...)
- Détection directe des antigènes viraux : il existe deux techniques ; l'immunofluorescence et l'immunochromatographie sur membrane.
- Sérologie : elle consiste en la recherche d'immunoglobuline G et M spécifiques du VRS.
- RT-PCR et autres méthodes d'amplification génique : Elle est le gold standard actuel. Elle permet comme pour la grippe, la détection du virus par amplification d'une partie du génome après action de la reverse transcriptase. Elle a l'avantage d'être très sensible et très spécifique, elle permet un diagnostic rapide en quelques heures pour la RT-PCR classique en laboratoire de biologie moléculaire (30).

3.7.1.6. Traitement

Actuellement très peu de thérapie à visée curative anti-RSV sont disponible sur le marché. La seule molécule ayant une autorisation de mise sur le marché (AMM) utilisée dans le traitement des infections à RSV est la Ribavirine. C'est un analogue nucléotidique de synthèse, utilisé dans le traitement d'infection virale efficace contre les virus à ADN et à ARN. Elle a également un effet immuno-modulateur, par stimulation des lymphocytes T auxiliaires (producteurs d'interférons, de cytokines ou d'interleukines). Elle a été utilisée en aérosol pour traiter des infections sévères à RSV, mais son utilisation est maintenant réduite à des cas particuliers (les patients transplantés principalement) du fait de sa toxicité importante et d'une balance bénéfique/risque peu favorable. Le traitement des infections à RSV est donc aujourd'hui principalement symptomatique

(oxygénothérapie, hydratation). Devant l'ampleur et la gravité potentielle des infections à RSV il est indispensable de mettre au point des traitements antiviraux efficaces et peu toxiques (31).

3.8. Coronaviridae

Cette famille comprend plusieurs genres dont le genre *coronavirus*, seul genre susceptible d'infecter l'homme. Au sein du genre, 4 génogroupes (alpha, beta, gamma, tetra), seuls les génogroupes beta et alpha infectent l'homme.

Coronavirus : virus à fort potentiel émergentiel.

- L'ARN des *coronavirus* (CoV) est plus grand ARN viral (sensiblement 30kb)
- Génome à ARN positif, à transcription discontinue ; taux élevé de recombinaisons
- Diversité génétique plus (existence d'un système de correction des erreurs).
- Acquisition lors de l'évolution de nombreux gènes ; optimisation de la réplication et facilitation de l'adaptation.
- Réservoir animal très étendu, notamment chez les chiroptères et les rongeurs (> 60% des mammifères)
- Transmission respiratoire et digestive (32).

3.8.1. MERS-Cov (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus)

3.8.1.1. Définition

Le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS) est une maladie due à un *coronavirus*. (MERS-CoV) détecté pour la première fois en 2012 en Jordanie et en Arabie Saoudite. Pour la période allant de 2012 au 31 octobre 2019, le nombre total de cas d'infection par le MERS-CoV confirmé en laboratoire et notifiés à l'OMS au titre du règlement sanitaire international (RSI 2005) s'établit à 2482, dont 852 cas mortels avec un taux de mortalité brut : 34,3% (33).

3.8.1.2. Épidémiologie

Depuis avril 2012, des cas de MERS-CoV, ont été identifiés dans les pays suivants dans le Moyen-Orient : la Jordanie, l'Arabie Saoudite, le Qatar, les Emirats Arabes Unis, le Koweït, le Yémen, le Liban et l'Iran. Plusieurs autres pays ont également signalé des cas de personnes qui ont voyagé dans le Moyen-Orient : Algérie, l'Allemagne, l'Autriche, la Chine, la Corée du Sud, l'Égypte, les États-Unis, la France, la Grèce, Hong-Kong, l'Italie, la Malaisie, les Pays-Bas, les Philippines, le Royaume-Uni, la Thaïlande, la Turquie et la Tunisie. La Corée du Sud, la France, l'Italie, le Royaume-Uni et la Tunisie ont signalé des cas de transmission locale parmi les personnes n'ayant pas voyagé au Moyen-Orient. La majorité des cas (environ 75%) ont été répertoriés selon la date de notification. On observe les deux principaux pics épidémiques en 2015, le plus important en juin et

le deuxième entre la fin juillet et fin août. L'épidémie semble présenter un profil saisonnier, avec une majorité de cas recensés entre les mois de juin et août (Ramadan, période d'Umrah) (34).

3.8.1.3. Agent pathogène

Le MERS-CoV fut rapidement entièrement séquencé, ce qui permit de comparer son génome à celui de nombreux *coronavirus* isolés précédemment chez l'homme et chez divers animaux dont des chauves-souris. Il apparut ainsi comme un virus entièrement nouveau, mais appartenant au sous-groupe 2c des *coronavirus*, lequel rassemble de nombreux virus de chiroptères. Parmi ces derniers, MERS-CoV était tout particulièrement proche génétiquement des souches Bat-CoV HKU4 et, surtout Bat-CoV HKU5. Le séquençage complet de 21 souches de MERS-CoV a fait apparaître une diversité génétique forte avec, par exemple, trois types génomiques distincts chez les malades de Riad en Arabie Saoudite, le pays le plus touché. Pour beaucoup d'auteurs, ces résultats indiqueraient un origine probable du virus chez le chauve-souris, tout en reconnaissant que le mécanisme par lequel le virus infectait l'homme restait entièrement inconnu (35).

3.8.1.4. Symptomatologie

L'évolution clinique est très variable allant des symptômes légers à la détresse respiratoire aigüe pouvant entraîner la mort. L'installation des signes cliniques se fait après une période d'incubation courte : 1 à 16 jours (ces deux extrêmes sont rares, le maximum étant de 10 jours généralement). Toutes les études publiées montrent que la fièvre est le symptôme le plus fréquent avec une température supérieure à 38°C. Comme d'autres infections respiratoires, les symptômes à type de frissons, céphalées, myalgie, asthénie et anorexie font très souvent partie du tableau clinique. L'absence très fréquente de coryza (rhinorrhée) est une différence avec l'infection grippale. Les troubles du transit sont dominés par la diarrhée et les douleurs abdominales (36).

3.8.1.5. Diagnostic virologique

Le diagnostic virologique repose sur la détection du génome du MERS-Cov par RT-PCR sur des prélèvements respiratoires. Le génome viral a été initialement détecté dans des échantillons cliniques humains avec des amorces ciblant des régions hautement conservées du génome du *coronavirus*, cependant, des tests validés d'amplification en chaîne par polymérase de la transcriptase inverse (RT-PCR) en temps réel sont désormais recommandés, car il se sont avérés à la fois sensibles et spécifiques. De multiples tests sont également largement utilisés, c'est-à-dire ceux ciblant une régions en amont du gène E ou des régions dans le cadre de lecture ouvert 1b (ORF 1b) (protéine nsp14) et le gène de la protéine de la nucléocapside (37).

3.8.1.6. Traitement

Aucun vaccin ou traitement spécifique n'est disponible actuellement. Le traitement est symptomatique, fondé sur l'état clinique du patient. Par mesure de précaution, toute personne visitant une ferme, un marché, une étable ou un autre endroit où se trouvent des dromadaires et d'autres animaux doit prendre des mesures d'hygiène générale, notamment se laver régulièrement les mains avant et après avoir touché les animaux, et éviter tout contact avec les animaux malades. La consommation de produit d'origine animale crus ou mal cuits, y compris le lait et la viande, entraîne un risque élevé d'infection par plusieurs organismes potentiellement pathogènes pour l'homme. Les produits d'origine animale qui ont été cuits ou pasteurisés correctement peuvent être consommés sans danger, mais doivent être manipulés avec précaution pour éviter toute contamination croisée avec des aliments crus. En attendant que davantage d'information soient disponibles, les personnes atteintes de diabète, d'insuffisance rénale, de pneumopathie chronique ou d'immunodéficience sont considérées comme particulièrement vulnérables aux formes graves de la maladie en cas d'infections par le MERS-CoV. Il est recommandé à ces personnes d'éviter tout contact avec les chameaux, de ne pas boire de lait cru ou d'urine de chameau et de ne pas consommer de viande mal cuite (38).

3.8.2. Syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS)

3.8.2.1. Définition

Le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) a été reconnu comme étant associé à une infection virale émergente, hautement contagieuse et pouvant être mortelle. Le 12 mars 2003, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) annonçait officiellement qu'une épidémie de pneumopathies atypiques sévères sévissait au Vietnam, et en Chine, principalement dans les régions de Hong Kong et de la province de Guangdong. Cette infection responsable d'un syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) était associée à une transmission interhumaine importante, contaminant notamment le personnel médical qui avait été en contact avec des patients infectés. L'ensemble de la communauté médicale était ainsi alerté de ce qui allait devenir la première grande pandémie de ce début de XXI^e siècle. Les premiers cas de patients présentant un SRAS ont été identifiés en novembre 2002, dans la province de Guangdong en Chine. Progressivement, cette épidémie s'est étendue, et des cas de patients infectés ont été observés dans 30 pays. Tous les continents ont été touchés. Cependant, la majorité des cas ont été rapportés en Asie du Sud-Est, et principalement en Chine. Début juillet 2003, cette pandémie était responsable de plus de 8500 cas et de 813 décès(39).

3.8.2.2. Données épidémiologiques

En novembre 2002, une épidémie inhabituelle de pneumonie sévère d'origine inconnue survint à Foshan, province de Guangdong en Chine méridionale, avec un taux élevé de transmission chez les professionnels de santé. Une étude virologique rétrospective, portant sur 55 patients admis dans un hôpital de Guangzhou (Canton) avec un tableau de pneumonie atypique entre le 24 janvier et le 18 février 2003, a permis l'isolement en culture cellulaire du SRAS-CoV dans les aspirations nasopharyngées de trois patients, tandis que 48 patients (87%) avaient des anticorps positifs vis-à-vis du SRAS-CoV dans les sérums de convalescence. L'analyse génétique a montré que les trois isolats de SRAS-CoV de Guangzhou avaient la même origine que ceux d'autres pays, avec un cheminement phylogénique correspondant à la propagation du SRAS dans les autres parties du monde (40).

3.8.2.3. Agents pathogènes

L'agent infectieux responsable de la transmission du SRAS (syndrome respiratoire aigu sévère) est un *coronavirus*. Ces virus ont fait l'objet d'une abondante littérature, surtout du fait des maladies qu'ils induisent dans certaines espèces animales d'élevage et des problèmes socio-économiques qui en découlent. Chez l'homme, les deux souches de *coronavirus* prototypes, nommées 229 E et OC43, sont responsables d'environ 30% des rhinites virales. Bien que ces maladies soient bénignes, certains auteurs notaient, dès 1998, que «la capacité d'évolution et d'adaptation des *coronavirus* est importante et peut engendrer l'apparition de variant dont le pouvoir pathogène serait modifié en faveur du virus ». On se félicite aujourd'hui des données accumulées-matériel qui ne peut qu'accélérer la mise au point d'une lutte efficace contre cette nouvelle pandémie. Le séquençage complet de plusieurs isolats du SARS-CoV (severe acute respiratory syndrome *coronavirus*) issus de malades atteints du SRAS met en évidence les similitudes et les différences entre ce nouveau virus et les souches de *coronavirus* préalablement caractérisées (41).

3.8.2.4. Symptomatologie

Les symptômes précoces les plus courants chez les patients dont l'état évolue vers SRAS sont les suivants : fièvre (100%), sensation de malaise (100%), frissons (97%), céphalées (84%), myalgies (81%), vertiges (61%), raideurs (55%), toux (39%), angine (23%), écoulement nasal (23%). Dans de nombreux cas, les patients se présentent tout d'abord avec de sévères céphalées, des vertiges et des myalgies. La température se maintient au-dessus de la normale pendant l'évolution de la maladie. Dans certains cas, on a observé une aggravation rapide de l'état général avec une faible saturation en oxygène et une détresse respiratoire aiguë imposant de placer le patient sous respiration assistée. Jusqu'à ce jour, environ 10% des patients ont dû être admis dans des service de soins intensifs (42).

3.8.2.5. Diagnostic biologique

Le diagnostic de SRAS repose d'abord sur le contexte épidémiologique. La biologie sanguine non spécifique peut révéler l'existence d'une lymphopénie, d'une thrombopénie, d'une élévation des transaminases, d'une augmentation des LDH et de la CPK. La radiographie pulmonaire peut être normale initialement. Les anomalies sont à prédominance interstitielle, focalisées ou diffuses. Le diagnostic de certitude repose sur l'identification du virus dans les sécrétions respiratoires ou dans les selles ou sur la sérologie, le meilleur examen étant la détection par RT-PCR. Les autres étiologies de pneumopathie doivent être systématiquement éliminées (43).

3.8.2.6. Traitement

Cependant, fort de leur expérience de pionniers, So *et al*, de l'hôpital Pamela Nethersole Easten de Hong Kong, ont publié leur protocole thérapeutique. So *et al*, proposent pour tous les patients dès l'admission un traitement antibiotique par une quinolone de deuxième génération, la lévofloxacine, à la dose de 500mg/ j remplacée par une association clarithromycine/amoxicilline-acide clavulanique chez les sujets de moins de 18 ans, les femmes enceintes ou les malades suspects de tuberculose. Selon eux, un traitement par corticoïdes et ribavirine doit être débuter dans 4 situations regroupant en fait la quasi-totalité des patients (30 sur 31) :

- Lésions radiologiques extensives ou bilatérales ;
- Persistance des signes radiologiques et de la fièvre au-delà de 21 jours ;
- Signes d'aggravation clinique, radiologique ou biologique ;
- Saturation artérielle en oxygène inférieure à 95% en air ambiant (44).

3.8.3. Nouveau coronavirus : Covid-19

3.8.3.1. Définition

Le nouveau coronavirus (2019-nCoV), appelé encore le Sars-CoV-2 par le Comité international de taxonomie virale (ICTV), appartient à la famille Coronaviridae (sous-type Coronavirinae et genre Bétacoronavirus). Il a été transmis à l'homme probablement par le pangolin, sur un marché de fruits de mer à Wuhan, dans la province du Hubei, en Chine, en décembre 2019. La découverte d'une pneumonie d'étiologie inconnue a poussé les chercheurs chinois à isoler rapidement l'agent pathogène en janvier 2020. La rapidité de la transmission interhumaine a causé une pandémie (45).

3.8.3.2. Épidémiologie

La pandémie de maladie à coronavirus (COVID-19) est toutefois sans précédent pour ces 100 dernières années en termes d'impacts sur l'activité humaine. La COVID-19 est causée par le *coronavirus* du syndrome respiratoire aigu sévère 2 (SRAS-CoV-2). En décembre 2019, les premiers cas de COVID-19 ont émergé dans la région de Wuhan, en Chine, où des personnes ont manifesté des symptômes de pneumonie sévère (fièvre, toux, dyspnée, hémoptysie). En janvier 2020, le virus s'est répandu à travers l'Asie, l'Europe et les Amériques. Le 11 mars 2020, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a déclaré l'état de pandémie alors que 114 pays dénombraient des cas de la maladie. En date de 11 mai 2020, on comptait officiellement 4132365 cas et 283387 décès à travers le monde. Toutefois, il est probable que le nombre réel d'infections soit beaucoup plus élevé, puisque le nombre de tests réalisés est faible dans plusieurs pays et que plusieurs personnes asymptomatiques n'ont probablement pas été diagnostiquées (46).

3.8.3.3. Agent pathogène

L'agent pathogène est un coronavirus dont la séquence génétique est similaire à 80% à celle du coronavirus du SRAS. Provisoirement il fut d'abord désigné par l'OMS et CDC (centre pour le contrôle et la prévention des maladies) sous le terme anglais 2019-nCoV, ou 2019-nCoV avant de porter le nom SARS-CoV-2 sur recommandation de l'ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses). Le SARS-CoV-2 a été isolé par mise en culture sur les cellules épithéliales respiratoires humaines. Le récepteur du virus est l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2). La reconnaissance du récepteur par un virus est un facteur important qui détermine la variabilité de l'hôte et la capacité d'un virus à traverser la barrière d'espèces. Seules certaines espèces animales peuvent reconnaître le SARS-CoV-2, ce qui plaide en faveur du passage du virus de la chauve-souris à un hôte intermédiaire avant de pouvoir infecter l'homme. Une des spécificités de SARS-CoV-2 est la perte de fonction d'ACE2 secondaire à l'infection virale, c'est probablement un phénomène clé dans la compréhension de la pathogénèse de ce virus. Il reconnaît l'ACE2 humain plus efficacement que SARS-CoV, augmentant sa capacité de transmission inter-humaine (47).

3.8.3.4. Symptomatologie

L'infection à SARS-CoV-2 est à l'origine d'une nouvelle maladie nommée maladie à Coronavirus 2019 (COVID-19), regroupant des formes bénignes et graves. Les patients infectés par le SARS-CoV-2 peuvent présenter un large panel de symptômes. Les signes les plus courants au cours de la maladie sont la fièvre (73% des cas) ainsi que des symptômes du syndrome pseudo-grippal, en association avec des signes respiratoires comme la toux (82%) et la dyspnée (31%). Plus rarement, une anosmie, une

agueusie ou encore une hémoptysie peuvent être retrouvées. Des symptômes intestinaux ont également été mis en évidence chez 10% des patients, tels que les vomissements, la diarrhée ou les douleurs abdominales (48).

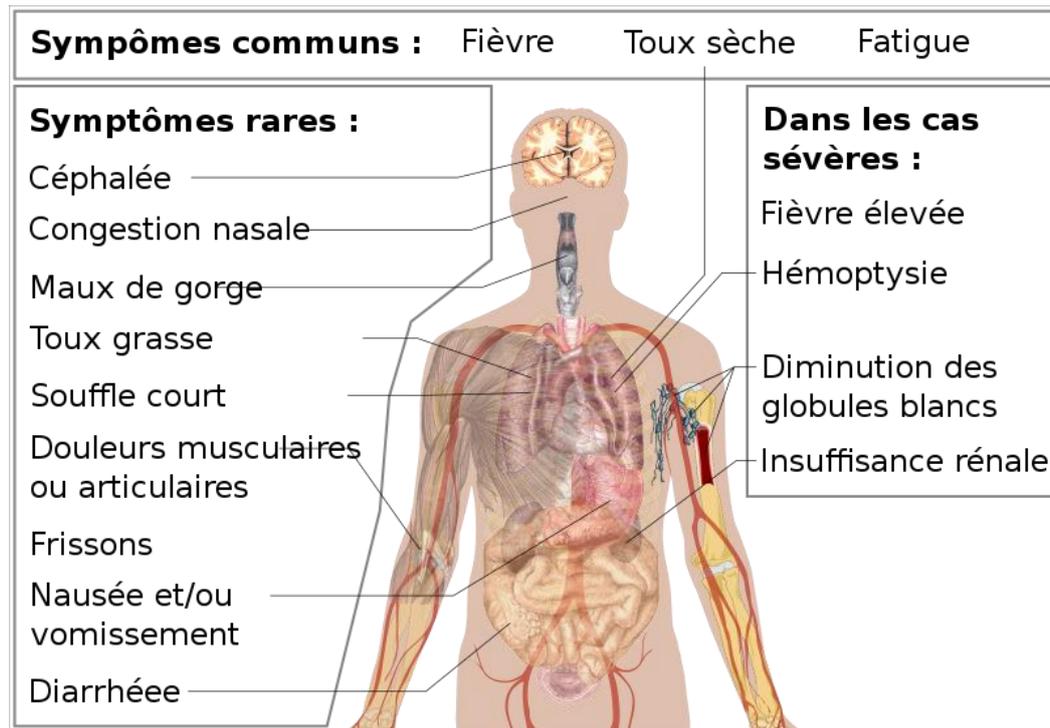


Figure 2 : schéma illustrant la diversité des symptômes de la COVID-19 ou pneumonie de Wuhan (49).

3.8.3.5. Diagnostic biologique

La sensibilité d'un test dépend du moment du prélèvement de l'échantillon. Le dépistage du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2 (SRAS-CoV-2) repose sur la RT-PCR, soit l'amplification en chaîne par polymérase couplée à une transcription inverse du matériel génétique du SRAS-CoV-2. La sensibilité de ce type de test est optimale lorsque les prélèvements nasopharyngés ou oropharyngés sont effectués peu de temps après l'apparition des symptômes.

- La sensibilité d'un test varie selon le type de prélèvement et la gravité de l'infection.
- Un résultat positif n'est pas nécessairement synonyme d'infectivité.
- Le dépistage hors laboratoire permet un diagnostic rapide, mais est limité par une « faible capacité de prélèvement ».
- Sérologie positive ne rime pas avec immunité à vie (50).

3.8.3.6. Traitement

Il n'existe jusqu'à présent aucun traitement spécifique pour les infections à COVID-19, le traitement n'est que de soutien. Les chercheurs ont commencé à étudier les traitements médicamenteux possibles pour l'infection par COVID-19. En Chine, il y a plus de 80 essais

cliniques en cours ou en attente sur les traitements potentiels pour COVID-19, y compris les anciennes thérapies traditionnelles chinoises. Certaines de ces études ont été critiquées en raison de leur protocole d'étude, du manque de normes spécifiques, telles que les méthodes de randomisation, les groupes de témoins et les mesures des résultats cliniques. Jusqu'à présent, il n'existe aucun remède spécifique pour la maladie. L'OMS a lancé un essai clinique qui comparera deux ou trois thérapies appuyés par des preuves scientifiques initiales, une combinaison de médicaments contre le VIH (lopinavir et ritonavir) et un antiviral expérimental (emdesivir). Jusqu'à présent, la mesure la plus importante est la prévention des infections, en limitant le contact avec les patients potentiellement infectés, les restrictions de voyage pour les personnes originaires des régions endémiques de Chine, l'utilisation d'équipements de protection (masques chirurgicaux, gants, lunettes de protection) (51).

3.9. Rhinovirus

3.9.1. Définition

Le Rhinovirus est la première cause virale d'infection des voies respiratoire et cela à travers toutes les classes d'âge, du nouveau-né au patient très âgé. Le caractère bénin de la plupart de ces infections ainsi que les difficultés à en isoler l'agent ont limité notre perception de son impact clinique. L'usage d'outils diagnostiques moléculaires a permis de mieux caractériser la diversité des présentations cliniques qui ne se limitent pas au simple rhume. Il est dorénavant clairement établi que le rhinovirus est capable d'infecter l'arbre respiratoire supérieur et inférieur qui est aussi le siège d'une répllication virale (52).

3.9.2. Epidémiologie

Le Rhinovirus est la première cause virale d'infection des voies respiratoires supérieures tant chez l'enfant que chez l'adulte. Son tropisme est donc essentiellement respiratoire alors que les autres membres du genre *entérovirus* sont responsables d'atteintes variées, notamment méningées, digestives ou respiratoires. Le taux d'infection est maximal dans la petite enfance et décroît avec l'âge, probablement en raison de l'immunité induite par l'expression cumulée à différents sérotypes, mais aussi en raison d'une diminution de contacts rapprochés avec des personnes infectées. Les RVH circulent sur l'ensemble de la planète et aucune distribution géographique particulière des différents sérotypes de ce virus n'est à ce jour documentée. Les infections à RVH sont observées toutes les années avec des pics au début de l'automne et du printemps dans l'hémisphère nord. Les RVH sont également les virus le plus fréquemment isolés en été mais leur incidence est faible. Plusieurs études ont montré que 77% des infections respiratoires du mois de septembre étaient dues aux seuls *rhinovirus*. Pendant le mois d'octobre, l'incidence globale des infections respiratoires augmente

toujours avec une majorité de RVH pour laisser place durant l'hiver aux infections à virus para-influenza puis à virus influenza et à virus respiratoire syncytial (VRS). L'incidence des *rhinovirus* augmente à nouveau au début du printemps pour diminuer ensuite pendant l'été (53).

3.9.3. Agent pathogène

Le genre *rhinovirus* appartient à la famille des *Picornaviridae*, qui comprend aussi *entérovirus* et *hépatovirus* (virus de l'hépatite A). Les propriétés communes de virus de cette famille sont l'absence d'enveloppe, une capsidie icosaédrique et un génome ARN monocaténaire de polarité positive. Plusieurs protéines VP1, VP2 et VP4 constituant la capsidie sont essentielles pour l'entrée du virus dans la cellule et pour réponse antigénique, et caractérisent la variété de cette famille. Le genre *rhinovirus* comprend plus de 100 sérotypes, répartis en deux espèces A et B (54).

3.9.4. Symptomatologie

Les infections à *rhinovirus* commencent typiquement avec un mal de gorge, rapidement accompagné d'écoulement nasal, de la sensation de nez bouché et de toux. Le mal de gorge disparaît rapidement alors que la rhinorrhée devient épaisse et purulente, ce qui n'est pas associé à une contamination bactérienne. La fièvre est peu fréquente chez les adultes mais assez courante chez les enfants. D'autres symptômes tels que des céphalées, des malaises, une asthénie voire des myalgies peuvent être observés (55).

3.9.5. Diagnostic biologique

Alors que les méthodes moléculaires bien conçues sont clairement plus sensibles pour la détection globale. Les isolats en culture sont importants pour les études des caractéristiques du virus et de la pathogénèse de la maladie. Il n'y a pas d'antigène commun parmi les HRV puisqu'un nombre de plus en plus grand de sérotypes a été décrit ; par conséquent, les tests de détection d'antigène ne sont pas utilisés pour la détection de routine. Les anticorps sont mesurés dans les sécrétions sériques et nasales par neutralisation, réduction de la plaque, fixation du complément et dosages immuno-enzymatiques (ELISA) dans les contextes de recherche. Comme on pensait que les virus ne causaient que des « rhumes », la plupart des Laboratoires ne considéraient pas que la détection et l'identification des infections à HRV valaient leur temps et leurs efforts. A la fin des années 80 des méthodes de tests basées sur la PCR capable de détecter le HRV dans des échantillons respiratoires primaires ont été signalés. L'utilisation des premiers tests moléculaires a entraîné une augmentation du taux de détection du HRV. Bien que l'identification ait dû être confirmée par séquençage en raison de la réactivité croisée avec l'ADN humain, ces tests ont raccourci le délai de 2 semaines à quelques jours (56).

3.9.6. Traitement

Les rhinovirus sont responsables de 30% à 50% des rhumes et apparaissent souvent à l'automne et touchent tous les âges.

- Antibiothérapie : les antibiotiques confèrent un bénéfice thérapeutique modeste tout en pouvant induire des effets indésirables. Compte tenu de l'évolution naturelle favorable du rhume, la prescription d'antibiotiques doit être réservée pour les patients ayant une haute probabilité d'infection bactérienne : il est suggéré aux médecins de s'entretenir avec les patients pour mettre en balance l'effet positif sur les symptômes d'un traitement antibiotique versus l'apparition de résistances bactériennes.
- Corticothérapie générale : les données de la littérature ne permettent pas de justifier la prescription d'une corticothérapie générale, trop souvent associée de principe à une antibiothérapie, et dont la surconsommation expose aux complications classiques de la corticothérapie.
- Antihistaminiques H1 : il n'y a pas d'arguments permettant de justifier la prescription d'antihistaminiques H1 dans le rhume (57).

4. Méthodologie

4.1. Cadre d'étude

Les activités de l'étude se sont déroulées dans quatre structures sanitaires et ont concerné les patients de la pédiatrie de l'hôpital du Mali, et ceux du CSCom de Yirimadio de Bamako. Les échantillons prélevés ont été acheminés au Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (C.I.C.M) ainsi qu'au Institut de Biologie des Pathogènes de Beijing (IPB) pour les analyses biologiques.

4.1.1. Hôpital du Mali

Il est composé d'unité et de sous-unités.

- L'unité d'hospitalisation composée de trois sous-unités : une sous-unité néonatalogie, de pédiatrie générale et des urgences pédiatriques ;
- L'unité de consultation externe composée de 3 boxes de consultation.

Le service a une capacité de 40 lits. Nous comptons au niveau du service douze (12) personnels dont trois (3) pédiatres, deux (2) médecins généralistes, trois (3) assistants médicaux, un (1) technicien supérieur, deux (2) infirmiers, une (1) aide-soignante. Il accueille les enfants malades en permanence avec une équipe du jour et une équipe de nuit.

Les missions assignées au service de pédiatrie sont le diagnostic et le traitement curatif chez les enfants, la prévention des maladies à transmission mère-enfant, les formations et les activités de recherche.

4.1.2. Centre de Santé Communautaire (CSCom) de Yirimadio

Le centre de santé communautaire (CSCom) de Yirimadio a été créé en 1997 par ordonnance n°383/MATS-DNAT et est inscrit au journal officiel. Le bureau élu pour un mandat de 3 ans a eu trois (3) renouvellements par assemblée générale dont le dernier fut en 2015 pour un mandat de 5 ans et se compose de 11 membres qui ont bénéficié de la confiance de la population pour un troisième mandat.

Le CSCom de Yirimadio est l'un des 11 centres de santé communautaires de la commune VI.

L'aire de santé de l'ASACOYIR est limitée au nord par celle de Missabougou, à l'Est et au Sud par le cercle de Kati, à l'Ouest par l'aire de santé de l'ASACOBABA (Association de santé communautaire de Banankabougou-Faladié).

➤ Structure de l'ASACOYIR

Le centre comprend une unité de médecine composé de quatre (4) salles de consultation ; quatre (4) salles d'observation (homme, femme) ; une salle de soins infirmier ; trois (3) salles de dépôts des médicaments ; un magasin ; trois toilettes ; un hangar ; une terrasse.

Une maternité comprenant une salle de consultation ; une salle d'hospitalisation ; un magasin ; un bureau pour sage-femme ; deux salles de consultation prénatale ; une salle de consultation postnatale ; une salle de planning familiale ; une salle programme élargi de vaccination ; une salle d'attente ; une salle d'accouchement ; une salle d'observation ; une salle de réunion ; une salle de garde ; un couloir.

Un hangar utilisé pour les activités de vaccination, les séances de communication pour le changement de comportement, de promotion nutritionnelle et de formation continue.

Une unité de récupération d'éducation nutritionnelle intensive (URENI) composé de : une terrasse, un hangar, un laboratoire, un bureau pour le gestionnaire, un magasin pour le stockage des instants, un logement pour le gardien et deux toilettes externes.

➤ **Activités de l'ASACOYIR**

Le paquet minimum d'activité comprend

- Les activités curatives qui couvrent la prise en charge des cas de maladies aiguës et chroniques et la référence de certains cas.
- Les activités préventives qui portent sur la consultation prénatale (CPN), le planning familial (PF), la surveillance et la vaccination des enfants ainsi que les femmes en âge de procréer. Les activités promotionnelles qui se résument essentiellement à la communication pour le changement de comportement (CCC).

➤ **Personnel de l'ASACOYIR**

Il est composé de 43 agents et les stagiaires qui assurent le bon fonctionnement du centre.

Pour les dispositifs médicaux du centre, nous ne pouvons citer que ce qui suivent :

Au niveau de dispensaire une ambulance ; quatre (4) tables de consultation ; quatre (4) bureaux à deux tiroirs ; dix-huit (18) lits pour perfusion ; dix (10) bancs métalliques ; trois (3) tables d'accouchements pour la maternité.

4.1.3. Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM)

Le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux a constitué notre cadre d'étude.

Le CICM est situé dans le quartier de l'ex-base aérienne de Bamako, rue du Docteur Charles Mérieux.

Fruit de la collaboration entre le gouvernement du Mali et la Fondation Mérieux. Le CICM a été mis en place suite à la signature de l'Accord-cadre N°0956/1899 du 18 février 2004 entre le Gouvernement du Mali et la Fondation Mérieux ainsi que la convention du 16 janvier 2005 et son protocole annexe du 11 mai 2011 entre le ministère de la Santé et la Fondation Mérieux.

- ❖ 8 décembre 2003 : Création de la Fondation Mérieux Mali
- ❖ 15 janvier 2004 : Pose de la première pierre du CICM
- ❖ 17 janvier 2005 : Inauguration du CICM
- ❖ En mai 2005 : Démarrage des activités

Le CICM comprend :

- Une administration générale.
- Un centre de formation avec une formation diplômante le BAMS (Bachelor de Biologie Médicale Appliquée), des formations qualifiantes et des formations par compagnonnage
- Un laboratoire d'analyses médicales dénommé Laboratoire Rodolphe Mérieux (LMR) avec des activités de recherche et des activités de routine.

La présente étude s'est déroulée dans le Laboratoire Rodolphe Mérieux (LMR).

Le CICM a pour mission de participer tout comme les autres structures du ministère de la santé au développement sanitaire du Mali par le service rendu aux malades, la formation, la recherche et le renforcement des capacités dans le domaine du diagnostic biologique dans des conditions désintéressées au bénéfice de la population.

Les ressources humaines du CICM sont composées de 29 agents, répartis entre les services techniques du LMR (17 agents) et les fonctions de support administratif, financier et logistique (12 agents).

Le LMR se compose des Laboratoires 1 et 2 au sein desquels les activités de recherche et de diagnostic de routine sont effectuées. Le Laboratoire 1 offre le cadre et le matériel pour la réalisation des examens d'hématologie, de biochimie et d'immunologie et le Laboratoire 2 prend en charge les examens de microbiologie (bactériologie, mycologie et parasitologie).

4.2. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude d'observation, prospective et transversale et a couvert les trois 3 saisons de l'année. L'étude s'est déroulée du 02 Janvier 2018 au 31 Décembre 2018 (soit 1 an).

4.3. Population d'étude

Les patients venant pour consultation au CSCoM de Yirimadio ou au service de pédiatrie de l'Hôpital du Mali (HDM) pendant la période d'étude.

4.3.1. Critères d'inclusion

- Avoir signé un consentement écrit pour les adultes et les parents ou tuteurs d'enfants,
- Avoir signé un assentiment écrit pour les enfants âgés de 12-17 ans.

- Avoir une fièvre aiguë (température corporelle supérieure ou égale à 38°C) associée à des symptômes respiratoires tels que la toux, la respiration sifflante.

4.3.2. Critères de non -inclusion

- Patient n'ayant pas donné son consentement ou assentiment,
- Patients présentant des signes d'infection autre que respiratoire.

4.3.3. Echantillonnage

L'étude a porté sur 600 patients répartis entre 2 centres de santé ; soit 177 à l'HDM et 423 au CSCom de Yirimadio. Des écouvillons oraux et naso-pharyngés ont été recueillis chez les patients consentis.

4.4. Collecte des données

Tous les patients répondants aux critères d'éligibilité ont subi une évaluation clinique et biologique standardisée.

Les formulaires de rapport de cas ont été remplis par des personnels formés en bonnes pratiques cliniques = GCP (good clinical practices) de manière appropriée avant le début de l'étude. Les données ont été collectées sur des tablettes et envoyées sur le serveur du MRTC au point G.

4.5. Variables mesurés

Socio-démographiques

L'âge, le sexe, la localité, la saisonnalité

Déroulement de l'étude

Dans les structures de santé

- Recherche de consentement éclairé
- Examen clinique
- Prélèvement naso-pharyngé et sanguin

Au laboratoire

- La PCR
- NFS
- Le génotypage

NB : Seuls les variables socio-démographiques et biologiques ont fait l'objet de notre analyse.

4.6. Méthodes

4.6.1. Recrutement de sujets de l'étude

Les patients de tous les âges venus en consultation et répondant aux critères d'inclusion de l'étude ont été recrutés. Deux médecins et deux infirmières ont été formés pour identifier les patients et collecter les données (cliniques et biologiques). Les adultes et les parents des enfants qui répondaient à tous les critères d'éligibilité étaient informés du protocole et leur participation volontaire à l'étude était demandée. Tous ont été informés qu'ils peuvent se retirer de l'étude à tout moment.

4.6.2. Définition de cas

Patients avec les symptômes suivants : fièvre (température corporelle supérieure ou égale à 38°C), associée aux symptômes respiratoires tels que toux, respiration sifflante et/ou radiographie thoracique anormale.

4.6.3. Méthode clinique

Les patients ont été examinés en mesurant la température axillaire et en enregistrant les signes respiratoires physiques et fonctionnels : fréquence respiratoire, râles respiratoires, picotement thoracique à l'inspiration, écoulement nasal, mal de gorge, cyanose et apnée intermittente.

4.6.4. Traitement, et stockage des échantillons

Les échantillons de sang et des voies respiratoires (écouvillons nasaux pharyngés) ont été recueillis dans cette étude. Seulement les échantillons oraux et naso-pharyngés ont été utilisés pour des tests moléculaires à la recherche de virus des voies respiratoires.

Les échantillons envoyés au laboratoire étaient extraits immédiatement et stockés à -20°C avant PCR.

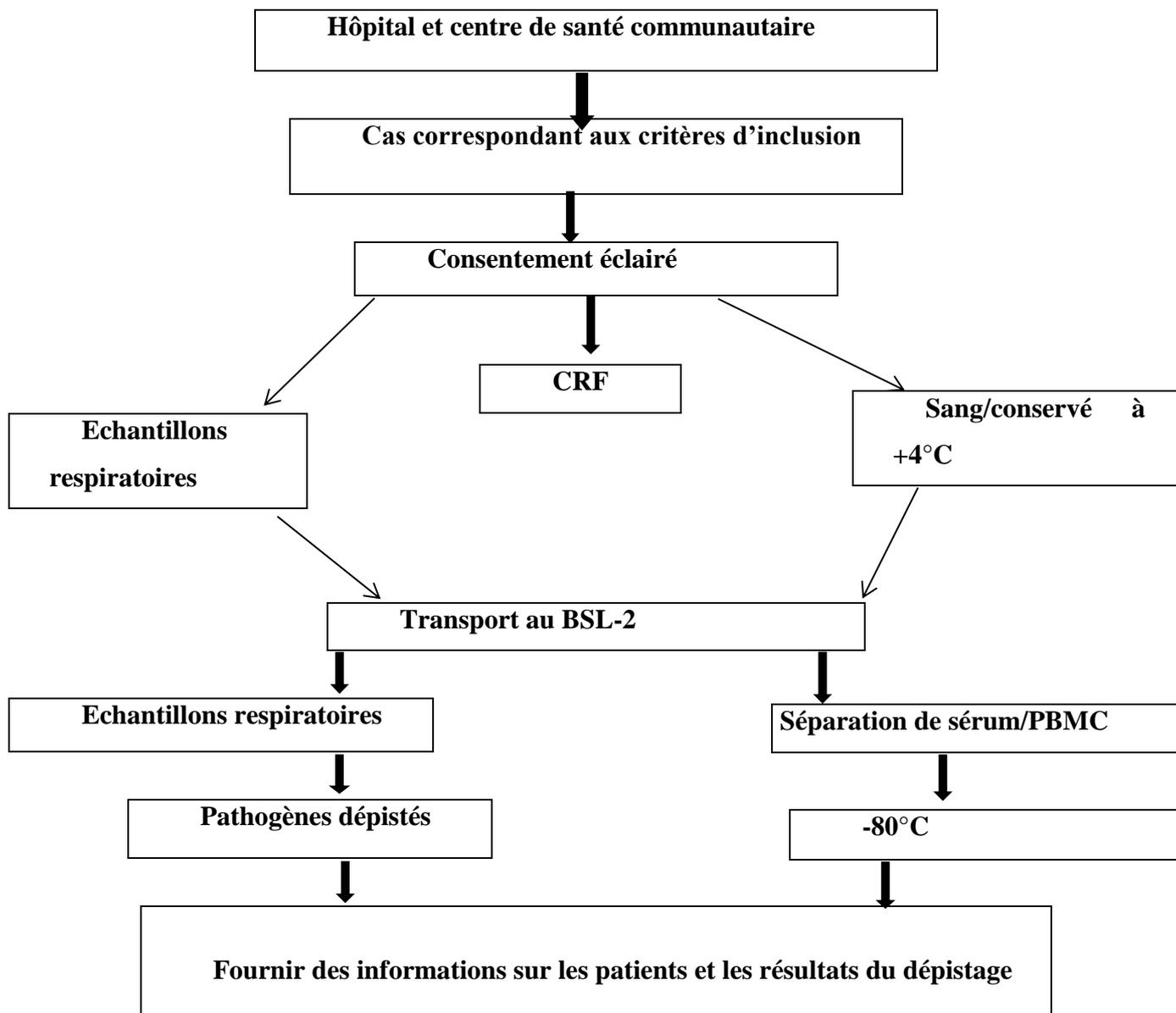


Figure 3 : Schéma organisationnel de la collecte et détection des échantillons

Des échantillons nasaux pharyngés et du sang périphérique ont été prélevés immédiatement et stockés à +4°C en conséquence pour l'extraction d'ADN /ARN.

Les échantillons de sang ont été étiquetés sur le site et expédiés au laboratoire CICM dans les 24 heures.

4.6.5. Prélèvement naso-pharyngé

Nous avons utilisé deux écouvillons pour un milieu de transport. Un premier écouvillon pour la gorge et le second pour les narines (pour prélever les cellules épithéliales riches aux virus respiratoires). Après le prélèvement, les deux écouvillons étaient introduits dans le milieu de transport, gardés au frais avant d'être transporté au CICM.

Ces spécimens ont été utilisés pour des tests de diagnostic moléculaire à la recherche de virus des voies respiratoires.

4.6.6. Traitement des échantillons

Au Laboratoire, chaque milieu de transport était aliquoté dans 3 tubes de 2 ml et gardé en congélation à -20°C avant l'extraction des acides nucléiques.

Les échantillons ont été extraits dans un volume total de 120 µl puis congelés à -80 degrés Celsius. Ensuite ces extraits ont été séchés dans des tubes RNA Stable avec l'automate SpeedVac™ DNA130 Thermo Fisher Scientific, puis envoyés en Chine (Beijing) pour les analyses moléculaires.

4.6.7. Protocole d'extraction des acides nucléiques avec le kit QIAGEN

Ce protocole décrit la procédure d'extraction pour isoler l'ADN et l'ARN des échantillons respiratoires.

4.6.7.1. Matériels et équipements

- Ethanol (96-100%).
- Tubes de micro-centrifugation de 1,5 ml pour l'élution.
- Des embouts de pipettes (embouts de pipettes avec des barrières anti-aérosols pour éviter la contamination croisée sont recommandés).
- Gants jetables.
- Pour les échantillons <200µl : solution de NaCl à 0,9% / PBS / UTM.
- Kit QIAmp MinElute virus Spin (50) (No de cat /ID : 57704).
- Contrôle négatif (NC, bouchon blanc) et contrôle interne (IC, capuchon bleu foncé) de FTD pathogènes respiratoires 21 plus kit.
- Cabine de biosécurité.
- Bloc chauffant pour la lyse des échantillons à 56°C.
- Micro-centrifugeuse (avec rotor pour tubes de 1,5 ml et 2 ml).
- Mixeur de vortex.

4.6.7.2. Procédure de préparation des réactifs d'extraction

Travailler dans une cabine de biosécurité et avec une blouse de Laboratoire et des gants.

❖ Les réactifs doivent être préparés

➤ QIAGEN protéase :

Ajouter 1,4 ml de tampon AVE au flacon de protéase QIAGEN lyophilisée et mélanger soigneusement pour éviter la formation de mousse. Assurer que la protéase QIAGEN est complètement dissoute. Etiqueter la protéase QIAGEN remise en suspension pour indiquer quel tampon a été utilisé pour la remise en suspension.

Remarque : N'ajoutez pas QIAGEN protéase directement au tampon AL. La protéase QIAGEN reconstitué dans le tampon AVE est stable pendant 12 mois lorsqu'elle est conservée entre 2 et 8°C, mais seulement jusqu'à la date d'expiration du kit.

Garder la solution mère de QIAGEN à température ambiante pendant des périodes prolongées doit être évitée. Le stockage à -20 °C prolongera sa durée de vie, mais il convient d'éviter les cycles répétés de congélation et de décongélation. Diviser la solution en aliquots et congeler à -20°C est recommandé.

- **Ajout du RNA carrier au tampon AL :** Ajouter 310 µl de tampon AVE au tube contenant 310 µg de RNA carrier lyophilisé pour obtenir une solution de 1 µg /µl. Dissoudre soigneusement le RNA carrier, divise en tampon AL.

Calculer le volume de mélange tampon AL-ARN carrier nécessaire par lot d'échantillon en sélectionnant le nombre d'échantillons à traiter simultanément à partir du **tableau 1**.

Pour un plus grand nombre d'échantillons, les volumes peuvent être calculés en utilisant l'exemple de calculs suivant :

$$N \times 0,22 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$Y \text{ ml} \times 28 \text{ µl / ml} = z \text{ µl.}$$

Où :

N = nombre d'échantillon à traiter simultanément

Y = volume calculé de buffer AL

Z = volume de RNA carrier – Buffer AVE à ajouter au tampon AL

Mélanger doucement en inversant le tube 10 fois. Pour éviter la formation de mousse, ne pas vortexer.

Tableau IV : Volumes de Buffer AL et Carrier RNA-Buffer AVE mix requis pour la procédure QIAamp Minute Virus Spin

Nombre d'échantillon	Vol. Buffer AL (ml)	Vol. carrier RN A-AVE (µl)	Nombre d'échantillon	Vol. Buffer AL (ml)	Vol. carrier RNA -AVE (µ)
1	0,22	6,2	13	2,86	80,1
2	0,44	12,3	14	3,08	86,3
3	0,66	18,5	15	3,30	92,4
4	0,88	24,6	16	3,52	98,6

5	1,10	30,8	17	3,74	104,7
6	1,32	37,0	18	3,96	110,9
7	1,54	43,1	19	4,18	117,0
8	1,76	49,3	20	4,40	123,2
9	1,98	55,4	21	4,62	129,4
10	2,20	61,6	22	4,84	135,5
11	2,42	67,8	23	5,06	141,7
12	2,64	73,9	24	5,28	147,8

- Amener les échantillons et le tampon AVE à la température ambiante
- Assurez-vous que le tampon AW1, le tampon AW2 et la protéase QIAGEN ont été préparés.
- Ajouter l'RNA carrier reconstitué dans le tampon AVE au tampon AL.

Pour l'extraction des acides nucléiques ; toutes les étapes de centrifugation ont été effectuées à température ambiante (15-25°C).

4.6.7.3. Procédure d'extraction

- Décongeler le contrôle négatif (NC, bouchon blanc) et le contrôle interne (IC, bouchon bleu foncé) du kit FTD pathogènes respiratoires 21 PLUS. Extrayez vos échantillons et le NC.
- **Pipeter 25µl de protéase QIAGEN** dans un tube de micro-centrifugation de 1,5ml (non fourni).
Remarque : lire « préparation de la protéase QIAGEN » pour plus d'information sur la remise en suspension de la protéase QIAGEN dans le tampon AVE.
- **Ajouter 200µl d'échantillon et NC** dans le tube de micro-centrifugation.
Si le volume de l'échantillon est inférieur à 200µl, ajouter la solution de chlorure de sodium à 0,9% (ou de solution BPS) pour amener le volume de la protéase et de l'échantillon à un volume **total de 225µl**.
- **Ajouter 200µl de tampon AL** (contenant 28pg /ml d'ARN carrier). Fermer le bouchon et mélanger par vortex pendant 15 secondes.
Afin d'assurer une lyse efficace, il est essentiel que l'échantillon et le tampon AL soient bien mélangés pour donner une solution homogène. Remarque : N'ajouter pas QIAGEN protéase directement au tampon AL.
- **Ajouter 3µl de contrôle interne** (IC bouchon bleu) directement au tampon de lyse de chaque extraction. N'ajouter jamais le contrôle interne directement à l'échantillon à moins d'être dans un

tampon de lyse. L'ajout du contrôle interne à chacun des échantillons et au contrôle négatif est une étape très importante pour voir si l'isolement de l'acide nucléique a réussi et pour vérifier l'éventuelle inhibition de la PCR. Mixer par impulsion-vortex pendant 5 secondes.

- **Incuber à 56°C pendant 15 minutes** dans un bloc chauffant.
- Centrifuger brièvement le tube de 1,5ml pour enlever les gouttes de l'intérieur du couvercle.
- **Ajouter 250µl d'éthanol (96-100%)** à l'échantillon, fermer le bouchon et bien mélanger en agitant au vortex pendant 15 secondes. **Incuber le lysat avec l'éthanol pendant 5 minutes** à température ambiante (15-25°C).

Remarque : Si la température ambiante dépasse 25°C, l'éthanol doit être refroidi sur de la glace avant d'être ajouté au lysat.

- Centrifuger brièvement le tube de 1,5ml pour enlever les gouttes de l'intérieur du couvercle.
- Appliquer soigneusement **tout le lysat de l'étape 8 sur la colonne QIAamp MinElute** sans mouiller la jante. Fermez le bouchon et **centrifugez à 6000 x g (8000rpm) pendant 1min.**
- Placez la colonne QIAamp MinElute dans un tube de collecte de 2 ml propre et jetez le tube de collecte contenant le filtrat.
- Si le lysat n'a pas complètement traversé la colonne après centrifugation, centrifugez à nouveau à une vitesse supérieure jusqu'à ce que la colonne QIAamp MinElute soit vide.
- Recommandé : ouvrez soigneusement la colonne QIAamp MinElute et **ajouter 500µl de tampon AW1** sans mouiller la jante. Fermez le bouchon et **centrifugez à 6000 x g (8000rpm) pendant 1 min.** placez la colonne QIAamp MinElute dans un tube de collecte de 2 ml propre et jetez le tube de collecte contenant le filtrat.
- Ouvrez soigneusement la colonne QIAamp MinElute et **ajoutez 500µl de tampon AW2** sans mouiller la jante. Fermez le bouchon et **centrifugez à 6000 x g (8000rpm) pendant 1 min.**
- Placez la colonne QIAamp MinElute dans un tube de collecte de 2 ml propre et jetez le tube contenant le filtrat.
- Ouvrir avec précaution la colonne QIAamp MinElute et **ajoutez 500µl d'éthanol (96-100%)** sans mouiller la jante. Fermez le bouchon et **centrifugez à 6000 x g (8000rpm) pendant 1 min.** jetez le tube de collecte contenant le filtrat.

Le transfert de l'éthanol dans l'éluat peut causer des problèmes dans les applications en aval.

Certains rotors de la centrifugeuse peuvent vibrer lors de la décélération, ce qui entraîne l'écoulement, qui contient de l'éthanol, en contact avec la colonne QIAamp MinElute. Le retrait de la colonne QIAamp MinElute et du tube de prélèvement du rotor peut également provoquer un contact direct avec la colonne QIAamp MinElute.

- Placez la colonne QIAamp MinElute dans un nouveau tube de collecte propre de 2 ml. **Centrifugez à pleine vitesse (20000 x g ; 14000tr /min) pendant 3 minutes** pour sécher complètement la membrane.

- **Recommandé :** placez la colonne QIAamp MinElute dans un nouveau tube collecteur de 2ml (non fourni), ouvrir le couvercle et incuber l'ensemble à 56°C pendant 3 minutes pour sécher complètement la membrane.

Cette étape sert à sécher tout le liquide restant.

- Placer la colonne QIAamp MinElute dans un tube de micro-centrifugation propre de **1,5ml (non fourni)** et jeter le tube de collecte avec le filtrat. Ouvrez délicatement le couvercle de la colonne QIAamp MinElute et **appliquez 60µl de tampon AVE** ou l'eau RNase-free au centre de la membrane. Fermez le couvercle et **incuber à température ambiante pendant 5 minutes.**

- **Centrifugez à pleine vitesse (20000xg ; 14000 rpm) pendant 1min.**

Ne jeter pas le tube de collecte, **ajouter de nouveau 60µl de tampon AVE** ou l'eau RNase-free au centre de la membrane. Fermer le couvercle et **incuber à température ambiante pendant 2 mn.**

Centrifugez à pleine vitesse (20000xg ; 14000 rpm) pendant 1min.

Le volume total d'élution est de 120µl.

- Diviser en 2 aliquots de 75µl et 45µ (liquide restant), poursuivre les procédures de détection ou conserver à -80°C.

4.6.8. Technique d'amplification à l'aide de l'automate CFX96

4.6.8.1. Caractéristiques

- ✓ **Technologie :** à gradient, en temps réel
- ✓ **Nombre de puits :** 96 puits
- ✓ **Autres caractéristiques :** avec écran tactile, avec port USB

4.6.8.2. Description

Le CFX96 Touch system est un système de détection PCR en temps réel puissant, précis et flexible. Cet instrument PCR en temps réel à six canaux (cinq couleurs et un canal FRET) combine une technologie optique avancée avec un contrôle précis de la température pour fournir une détection sensible et fiable pour les réactions monoplex ou multiplex.

Configurez rapidement des exécutions et surveillez les traces d'amplification en temps réel sur l'écran tactile LCD intégré, ou utilisez le logiciel CFX maestro inclus pour concevoir facilement et intuitivement votre expérience et analyser les résultats depuis un ordinateur connecté. Avec une détection jusqu'à cinq cibles, des performances inégalées du thermocycleur, une fonctionnalité autonome inégalée et un logiciel puissant et facile à utiliser, le système CFX96 Touch est conçu pour faire avancer votre PCR.

4.6.8.3. Caractéristiques et avantages clés

Avec le CFX96 Touch Real-Time PCR Détection System, vous pouvez :

Configurer votre system rapidement –installation facile et optique calibré en usine.

Minimiser l'utilisation des échantillons et des réactifs –jusqu'à 5 cibles de multiplexage avec des volumes d'échantillons aussi faibles que 10µl. Optimiser les réactions en un seul passage –fonction gradient thermique.

Analysez les données plus rapidement – visualisez toutes les données d'exécution en une seule fois et exportez uniquement les données dont vous avez besoin dans le format que vous souhaitez.

Utilisez des outils avancés d'analyse de données –expression normalisée des gènes à l'aide du logiciel CFX Maestro.



Figure 4 : Image de l'automate CFX 96 **Source :** C.I.C.M

4.7. Considérations éthiques

Le protocole d'étude a été approuvé par le comité d'éthique des Facultés de Médecine et d'Odontostomatologie et Pharmacie (lettre N°2017/158/CE/FMPOS).

Conformément à la réglementation en vigueur, la confidentialité et l'anonymat ont été respectés tout au long de notre étude,

Les accords préalables des autorités administratives de l'hôpital du Mali et du CSCOM de Yirimadio ont été obtenus.

La participation à cette étude était volontaire et les participants avaient le libre choix de se retirer de l'étude à tout moment s'ils le souhaitaient.

4.8. Saisie et analyse des données

Les données ont été directement enregistrées sur des tablettes en utilisant le système ODK, et envoyées sur le serveur sécurisé du MRCT. Les tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel statistique R version R-4.1.0.

5. Résultats

5.1. Résultats globaux

Notre étude a porté sur 600 patients dont 177 de l'HDM et 423 du CSCCom de Yirimadio. Parmi les 177 patients de l'HDM, 149 (84%) étaient positifs aux agents pathogènes respiratoires. Au CSCCom de Yirimadio, sur les 423 patients, 363 (86%) étaient positifs. Nous avons détecté 23 pathogènes (virus et bactéries) sur les échantillons collectés dans les deux structures sanitaires regroupés. Une mono-infection virale a été observée sur 32 échantillons (18,08%) à l'HDM contre 61 échantillons (4,42%) au centre de Yirimadio, soit un total de 93 (15,50%) pour les 2 structures sanitaires. Une coinfection (bactéries-virus) a été observée sur 74 (41,81%) à l'HDM contre 217 (51,30%) au CSCCom de Yirimadio soit un total de 291 (48,50% co-infection au niveau des 2 structures). Une détection conjointe (virus-virus) a été vue sur 5 (2,82%) patients de l'HDM contre 8 (1,89%) au CSCCom de Yirimadio soit un total de 13 (2,17%) pour les deux centres réunis.

En fin, une détection conjointe (bactérie-bactérie) observée sur 10 (5,65%) des patients de l'HDM contre 18 (4,26%) au CSCCom de Yirimadio soit un total de 28 (4,67%) co-infections pour les 2 structures.

5.2. Résultats descriptifs

5.2.1. Description sociodémographique

Des informations démographiques et le taux de détection des échantillons prélevés dans les deux sites sont réunis dans le tableau V.

Tableau V : données démographiques et taux de détection

	Nom de l'hôpital			Total
	HDM	CSCCom	Yirimadio	
Nombre de patients	177	423		600
Tranche d'âge (année)	0-20	0-78		0-78
Age moyen/Médiane (année)	2,87/2	12,08		9,56/3
Sexe (M/F)	100/77	192/231		292/308
Positif (%)	149 (84,18)	192 (85,82)		512 (85,00)
Négatif (%)	28 (15,72)	60 (14,18)		88 (15,00)

Notre étude a porté sur 600 patients dont 177 à l'HDM et 423 au CSCCom de Yirimadio.

Tableau VI : Répartition des patients selon le sexe

Sexe	HDM	CSCCom de Yirimadio
Homme	100 (56%)	192 (45%)
Femme	77 (44%)	231 (55%)
Total	177 (100%)	423 (100%)

Pour les deux structures combinées le sexe féminin prédominait (51,3%) avec un sexe ratio global de 0,9 (292/308).

Tableau VII : Répartition des patients selon le taux de positivité.

Résultats	HDM	CSCCom de Yirimadio
Positif	149 (84%)	363 (86%)
Négatif	28 (16%)	60 (14%)
Total	177 (100%)	423 (100%)

En moyenne 85% des échantillons étaient positifs à au moins un agent pathogène.

5.2.2. Fréquence d'isolement des pathogènes dans les 2 structures cumulées

Dans tous les échantillons testés, nous avons détecté 23 pathogènes (virus et bactéries).

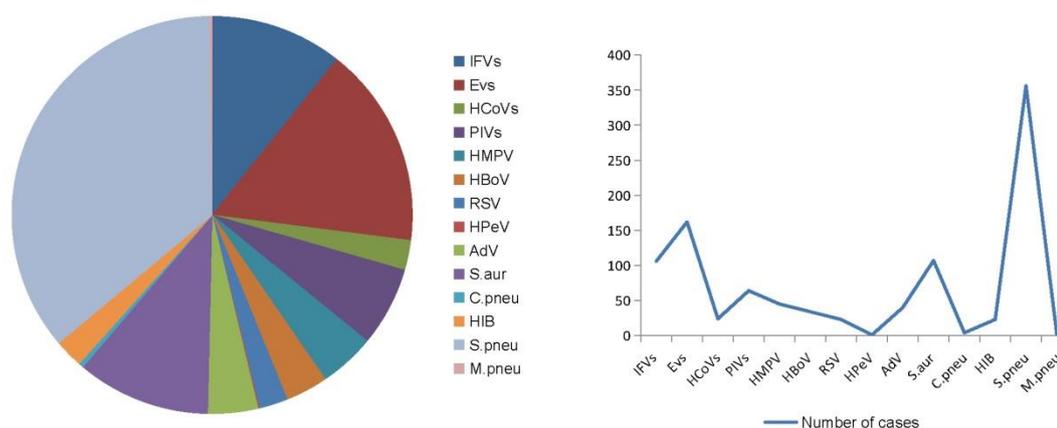


Figure 5 : Fréquence d'isolement des germes.

5.2.3. Fréquence d'isolement des pathogènes selon la structure

La tendance de distribution est similaire dans les deux centres.

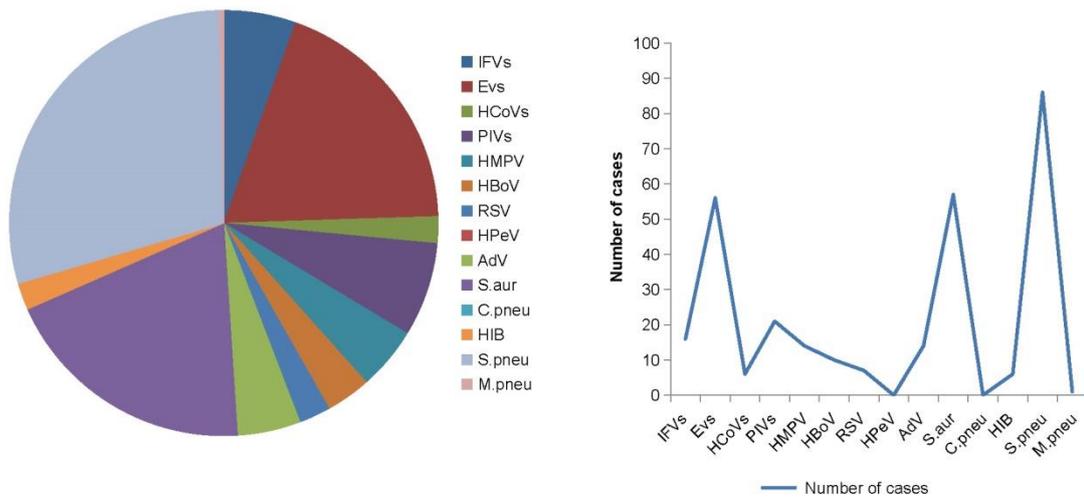


Figure 6 : Détection de pathogènes respiratoires dans les échantillons prélevés à l'hôpital du Mali.

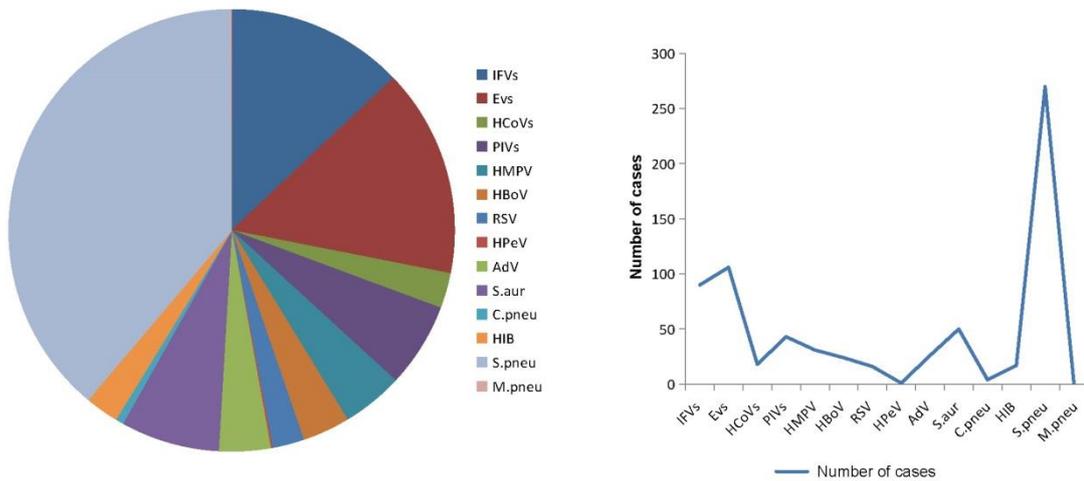


Figure 7 : Détection de pathogènes respiratoires dans les échantillons prélevés au CSCOM de Yirimadio.

5.2.4. Distribution des pathogènes par produit pathologique

Tableau VIII : Co-détection d'agents pathogènes respiratoires.

Détection d'agents pathogènes	Hôpital du Mali	CSCom de Yirimadio	Total
Détection négative	28 (15,82%)	60 (14,18%)	88 (14,67%)
Virus uniquement	32 (18,08%)	611 (4,42%)	93 (15,50%)
Détection conjointe virus-virus	5 (2,82%)	8 (1,89%)	13 (2,17%)
Bactéries seulement	28 (15,82%)	59 (13,95%)	87 (14,50%)
Co-détection bactérie-bactérie	10 (5,65%)	18 (4,26%)	28 (4,67%)
Détection conjointe Bactérie-virus	74 (41,81%)	217 (51,30%)	291 (48,5%)

Plusieurs agents pathogènes ont été détectés en co-infection.

Les patients présentant une co-infection bactérie-virus étaient les plus représentés (48,50%) dans les deux structures de santé.

5.2.5. Distribution des virus détectés et leurs sous-types

Tableau IX : Répartition des virus et leurs sous-types

	Type	Hôpital du Mali	CSCCom Yirimadio	Total
IFVs	IFVBA	3 (1,69%)	48(11,35)	51 (8,50%)
	IFVB	13 (7,34%)	42 (9,93%)	55 (9,17%)
EVs	HRV	49 (27,68%)	86(20,33)	135(22,50%)
	EV	7 (3,95%)	20 (4,73%)	27 (5,50%)
	229 E	2 (1,13%)	2 (0,47%)	4 (0,67%)
	NL 63	3 (1,69%)	3 (0,71%)	6 (1%)
HCoVs	HKU1	1 (0,56%)	5 (1,18%)	6 (1%)
	OC 43	0	8 (1,89%)	8 (1,33%)
HPIVs	HPIV1	0	4 (0,95%)	4 (0,67%)
	HPIV2	4 (2,26%)	2 (0,47%)	6 (1%)
	HPIV3	10 (5,65%)	21 (4,96%)	31 (5,17%)
	HPIV4	7 (3,95%)	16 (3,78%)	23 (3,83%)
RSV	RSVA	6 (3,39%)	15 (3,55%)	21 (3,5%)
	RSVB	1 (0,56%)	1 (0,24%)	2 (0,33%)

Parmi les sous-types détectés, ceux d'*Entérovirus* étaient majoritairement représentés dont 20,33% dans le CSCCom de Yirimadio et 27,68% à l'Hôpital du Mali.

5.2.6. Distribution mensuelle des pathogènes au cours de l'année

Tableau X : Taux de détection mensuelle

Mois	Nombre de cas positifs	Nombre total de cas	Taux de détection
Janvier	51	66	77,27
Février	40	50	80,00
Mars	31	33	93,94
Avril	22	28	78,57
Mai	34	40	87,50
Juin	27	32	84,38
Juillet	83	94	88,30
Aout	55	65	84,62
Septembre	41	51	80,39
Octobre	63	70	90,00
Novembre	26	27	96,30
Décembre	38	44	86,36

Le taux de détection était plus élevé dans les mois de mars (93,94%), juillet (88,30%), octobre (90,00%) et novembre (96,30%).

5.2.7. Distribution des pathogènes détectés selon la saison

Sachant qu'il existe trois saisons au Mali, nous avons également analysé la distribution dans les deux sites.

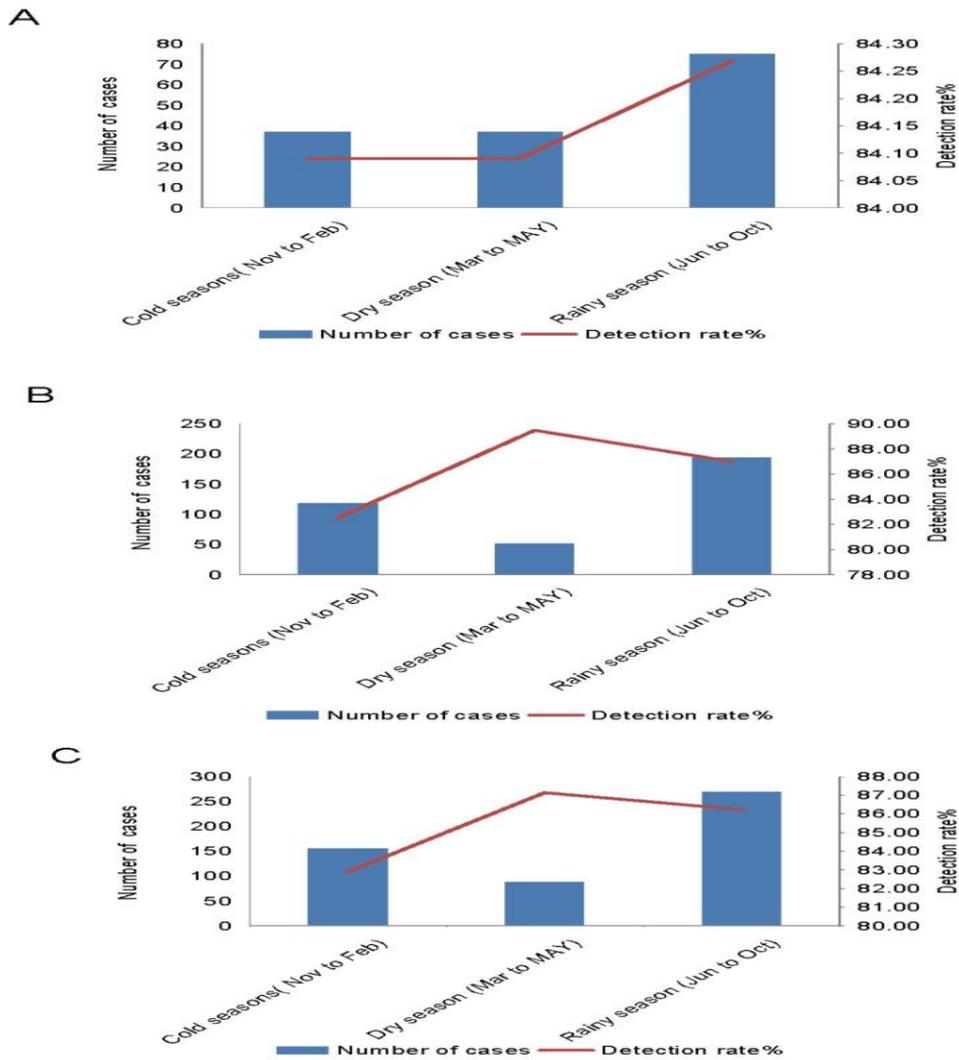


Figure 8 : Distribution saisonnière des pathogènes détectés dans les 2 structures.

Les virus respiratoires étaient les plus isolés pendant la saison pluvieuse (**juin-octobre**) dans les deux sites

5.2.8. Distribution mensuelle de cas positifs et le taux de détections des pathogènes

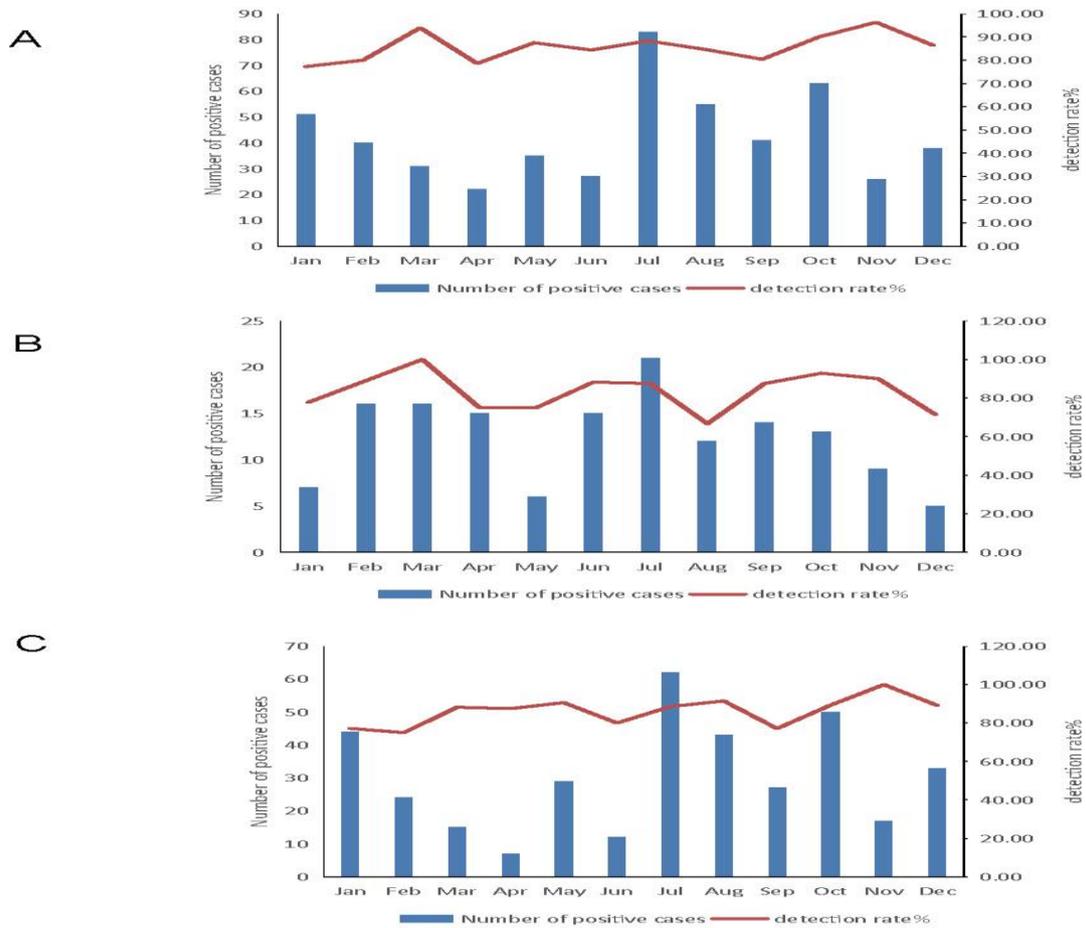


Figure 9 : Distribution mensuelle des pathogènes respiratoires et leur taux de détection selon la structure.

A= Hôpital du Mali ; B= CSCCom de Yirimadio ; C= A+B.

Le nombre de cas positif le plus élevé a été observé dans le mois de juillet (83 cas) et le pic de détections au mois de novembre (96,30%).

5.2.9. Distribution des taux selon la tranche d'âge

Tableau XI : Répartition du nombre de cas positif et du taux de détection selon la tranche d'âge

An	Nombre de cas positif	Nombre total de cas	Taux de détection (%)
0-5	363	390	93,08
6-14	72	89	80,90
15-40	60	82	73,17
>40	17	39	43,59

Le taux de détection diminuait avec l'augmentation de l'âge.

Les enfants de 0-5 ans étaient les plus touchés par les pathogènes respiratoires avec un taux de détection de 93,08%.

5.2.10. Distribution des cas et du taux de détection selon la tranche d'âge et la structure

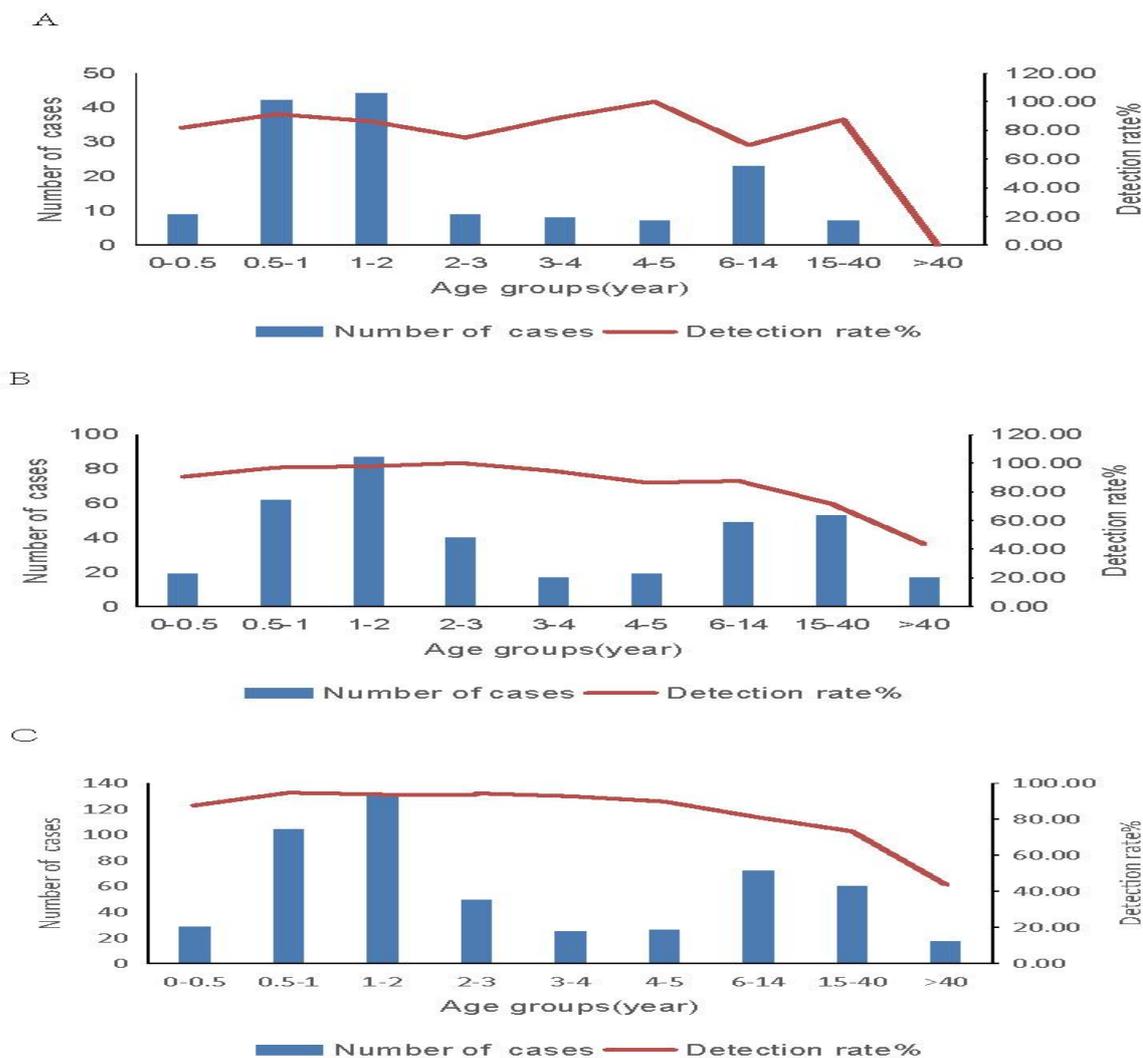


Figure 10 : Répartition des cas positifs et du taux de détection selon la tranche d'âge et par structure

A = hôpital du Mali ; B = CSCCom de Yirimadio ; C = A+B.

Dans les deux structures, les enfants de 1-2 ans étaient les plus représentés.

5.2.11. Distribution des sérotypes de *Streptococcus pneumoniae* isolés dans les 2 structures

Tableau XII : Répartition des nombres de cas et des taux de détection des sérotypes de streptococcus pneumoniae identifiés

Sérotipe	Nombre de cas	Taux de détection
11A/11D	31	17,03
19F	30	16,48
23F	20	10,99
14	19	10,44
12F/12A/12B/44/46	17	9,34
9V/9A	16	8,79
7F/7A	15	8,24
6A/6B/6C/6D	12	6,59
3	12	6,59
22F/22A	12	6,59
15A/15F	10	5,49
19A	9	4,95
4	6	3,3
5	5	2,75
6C/6D	5	2,75
1	4	2,2
18C/18F/18B/18A	4	2,2
33F/33A/37	4	2,2
2	2	1,1
16F	1	0,55

Les sérotypes 11A/11D et 19F étaient les plus isolés, soit respectivement 17% et 16% de l'ensemble des *Streptococcus pneumoniae* isolés.

5.2.12. Distribution des sous-groupes de virus respiratoire syncytial détectés dans les deux structures

Tableau XIII : Sous-groupes du virus respiratoire *syncytial*.

Hôpital	Total	Nombre de RSVA	Nombre de RSVB
Hôpital du Mali	7	6	1
CSCCom de Yirimadio	16	15	1

Ils y'a 23 échantillons positifs au RSV qui ont été typés en RSVA (21), et RSVB (2)

Dans les deux sites, le sous-groupe RSVA était le plus isolé, soit 6 cas à hôpital du Mali 6 et 15 cas au CSCCom de Yirimadio.

5.3. Discussion

Parmi les maladies infectieuses, celles qui affectent les voies respiratoires sont les plus fréquentes et sévères dans les régions tropicales. Elles tuent plus d'enfants et de sujets âgés dans les pays en développement que dans d'autres parties du monde. Au Mali, les maladies respiratoires sont souvent mal diagnostiquées, donc mal traitées et n'ont pas de vaccins dans la plupart des cas. Le CICM-Mali et l'IPB de Chine ont mené cette étude pour rechercher les causes virales de ces maladies respiratoires au Mali. Ainsi les informations issues de cette étude aideront à améliorer la surveillance des virus qui affectent les voies respiratoires au Mali. Pour atteindre cet objectif nous avons adopté comme méthodologie de conduire une étude d'observation, transversale répétée dans les services de pédiatrie de l'HDM ainsi que dans le CSCom de Yirimadio. Le choix de ces deux services se justifie par le fait que l'HDM est l'un des 3 centres hospitaliers de références au Mali qui reçoit pratiquement la majorité des enfants malades et le CSCom de Yirimadio, par sa position géographique ainsi que sa forte fréquentation par des patients de tout âge. Ainsi nous avons profité de l'opportunité offerte par la collaboration entre la Fondation Mérieux (Lyon-France) et l'Institut de Biologie des pathogènes (CAMS-Chine) et le CICM pour étudier ces virus, documenter leur risque potentiel et fournir des évidences scientifiques pour les politiques de MSHP au Mali.

5.3.1. Le taux de détection des agents pathogènes sur la population d'étude

Au total, nous avons analysé 600 prélèvements parmi lesquels 512 (85%) ont été testés positifs à au moins un agent pathogène (virus, bactéries). Ce résultat est comparable à celui de Derrar *et al* (58) qui au cours de leur étude dirigée dans le département pédiatrique de l'hôpital universitaire de Blida en Algérie ont trouvé 97 (82,9%) positifs sur 117 enfants testés pour infections respiratoires. KENMOE (59) au Cameroun a aussi trouvé dans son étude un taux de positivité élevé 597/822 (72.6%). Or d'autres études ont trouvé des taux très bas par rapport à la nôtre. Dans une étude épidémiologique dirigée par FERET *et al* (60) au CHU-Bordeaux le taux de détection était 37/73 (52%) des enfants hospitalisés. Ce bas taux comparativement à ceux trouvés en Afrique peut s'expliquer par différence de vie et de condition sanitaire avec la France. Néanmoins, cette proportion semble varier considérablement d'un pays à l'autre. Kwofie *et al* (61) ont enregistré un pourcentage aussi faible que 27,7% au Ghana et Khor *et al*, 26,4% en Malaisie. Considérant les études ci-dessus la faible prévalence enregistrée par Khor *et al* pourrait être dû à leurs méthodes de détection immunofluorescence directe (IFD) et isolement viral qui sont connus pour être moins sensibles que les techniques moléculaires (62).

5.3.2. Fréquence de détection des agents pathogènes selon la tranche d'âge

Sur les 600 patients inclus dans notre étude, les enfants de 0-5ans étaient les plus touchés (93,08%) alors que les patients de 40-78 ans étaient les moins représentés (43,59%). Cela confirme les données de la littérature sur le plan mondial.

Selon de nombreuses études, les nourrissons représentent la tranche d'âge la plus touchée. Dans une étude dirigée dans les quatre districts sanitaires du Mali (Kayes, Sikasso, Ségou, Mopti) par SANOGO (7) , les enfants de 1-5 ans représentaient 78,7%.

De même El OUAZZANI (63) a trouvé dans son étude effectuée à l'hôpital mère enfant du CHU Mohamed VI du Marrakech un taux de 79% chez les enfants de moins d'un an. Des taux plus bas ont été rapportés par d'autres études, COULIBALY (64) dans son étude sur la fréquence des maladies respiratoires à ASACOMA du district de Bamako, a rapporté un taux de 476/985 (48,3%) chez les enfants de 0-5 ans. La vulnérabilité de cette tranche d'âge serait liée à l'immaturation de leur système immunitaire c'est pour cela que la plupart des programmes mondiaux de lutte contre la morbidité et la mortalité infantile soit axés sur cette tranche d'âge (65).

5.3.3. Fréquence de détection des agents pathogènes selon le sexe

Les pathogènes respiratoires ne semblent pas avoir de préférence vis-à-vis du sexe du patient. Nous avons eu un sexe ratio homme/femme 100/77 (1,3) à l'HDM et 192/231 (0,8) au CSCom de Yirimadio avec un sexe ratio globale de 292/308 (0,9). Pour les deux structures combinées le sexe féminin prédominait avec un taux de 51,3% de l'ensemble des patients inclus. Par contre DOUMBIA *et al* (66) ont trouvé une prédominance masculine 63% avec un sexe ratio de 1,73. D'autre part SANOGO(7) et COULIBALY (64) ont trouvé des résultats similaires au notre où le sexe féminin était majoritairement représenté avec respectivement 50,1% et 50,3%.

5.3.4. Fréquence de détection des agents pathogènes selon le mois

Dans notre étude la répartition mensuelle montre des périodes de recrudescence avec des pics au mois de mars (93,9%), juillet (88,3%), octobre (90,0%) et mois de novembre (96,3%). Ces variations sont fonction du climat de chaque pays. Ainsi dans l'étude Léon (67) les pics étaient atteints dans les mois de mars et octobre qui correspondent au début de la saison sèche et celui de la saison pluvieuse au Congo RDC. Ces résultats confirment celles trouvés au Sénégal par DIAGNE *et al*(65) qui ont observé des pics dans les mois d'août, mars et avril qui correspondent à la période de transition entre la fraîcheur et la période de forte chaleur. Ce climat favorise les infections ORL, ce qui fragilise la muqueuse respiratoire et facilite la diffusion des germes. Le pic de mois d'Aout pourrait s'agir de l'effet de l'humidité. Tout comme Bobossi *et al* (68) dans leur étude sur les infections virales respiratoires de l'enfant de Bangui, la distribution mensuelle a montré des pics de

circulation au cours du mois de mai ce qui correspond au début de la saison pluvieuse où le taux d'humidité est élevé.

5.3.5. Taux de détection saisonnière des agents pathogènes

Au Mali nous avons deux saisons :

Une saison sèche d'octobre à mai ;

Une saison pluvieuse de juin à septembre

Nous avons observé au cours de cette étude une répartition saisonnière similaire pendant la saison froide (novembre-février) et la saison sèche (mars-mai) environ 25 cas (84,10%) pour les deux sites confondus. Le pic saisonnier a été observé pendant la saison pluvieuse (juin-octobre) environ 70 cas. Comparativement à notre étude MAINASSARA *et al* (69) au Niger ont observé des taux de détection plus élevé pendant la saison froide (mi- décembre à mi-février) et la saison sèche (mi-février à mai) avec respectivement 15,4% et 11,7%.

Au Togo BANKONDE *et al* (70) ont trouvé dans leur étude une répartition saisonnière avec des périodes de pics dans les mois de janvier (début de harmattan), mars (fin de la saison sèche) ainsi qu'au mois de juillet et octobre qui correspondent au saison des pluies (petite et grande saison pluvieuse). En Chine le taux de détection était plus élevé en hiver LI *et al* (71).

Dans une étude dirigée par Annan *et al*(72) portant sur les enfants ghanéens et allemands, le pic de détection pour les virus enveloppés était observé en saison pluvieuse au Ghana (mars-juin et septembre à octobre) et pour Allemagne en saison hivernale relativement plus froide (d'octobre à mars). Les virus non enveloppés étaient plus fréquents pendant la saison sèche ghanéenne et en Allemagne ils étaient les plus détectés pendant l'été.

5.3.6. Fréquence de détection des agents pathogènes respiratoires

Tous les patients avaient bénéficié d'un prélèvement naso-pharyngé et ont fait l'objet d'étude par la technique PCR multiplex qui a permis d'isoler des virus ainsi que des bactéries chez les patients. Sur le plan virologique sur les 600 patients inclus dans notre étude, 512 (85%) ont été testés positifs. Le cas de mono-infection virale a été observé sur 93 échantillons soit 15,50%. Une co-infection virus-virus a été observée sur 13 cas (2,17%). La détection de co-infection bactérie-virus prédominait largement sur un total de 291 cas (48,50%). Sur le plan bactériologique, le cas de mono-détection bactérienne a été observé sur 87 (14,50%) échantillons et la détection de co-infection bactérie-bactérie sur 28 cas (4,67%). Ce même profil a été retrouvé dans plusieurs études ; au Sénégal DIAGNE *et al*(65) dans une série d'étude (utilisant la même technique) ont trouvé un ou plusieurs virus dans 88 prélèvements soit un taux de 80,7% parmi lesquels une mono-infection virale chez 52 cas (59,1%) et une co-infection dans 40,9%. Outre les virus, la PCR multiplex a permis de retrouver les bactéries dans 90 prélèvements soit un taux de positivité bactériologique de

82,6%. De même LI *et al*(71) dans leur étude ont retrouvé sur les 775 échantillons un taux de positivité de 80,8% répartis comme suit 428/775 (55,2%) et en mono infection (un seul agent pathogène) et une co-infection (plusieurs agents pathogènes) dans 198 cas (25,5%).

Par ailleurs sur les 271 enfants inclus dans l'étude de El OUAZZANI(63) , sur une période de 13 mois ; 229 (84,5%) ont été testés positifs aux pathogènes respiratoires avec une prédominance virale (87%). L'étiologie bactérienne a été retrouvée chez 13% des enfants testés positifs.

BERRAJAH *et al*(73) ont trouvé une fréquence de détection des agents pathogènes en mono infection virale ou bactérienne dans 192/319 (60%) de cas et une co-infection virus-virus dans 124/319 (39%) de cas , virus-bactérie dans 4/319 (1%) de cas. Les bactéries atypiques *Mycoplasma pneumoniae* (deux cas soit 0,5%) et *Chlamydia pneumoniae* (trois cas soit 0,8%) ont également été retrouvées chez cinq (5) enfants.

5.3.7. La fréquence de distribution des virus identifiés

Les principaux virus retrouvés chez les patients inclus dans notre étude étaient : l'*Entérovirus* (EVs) qui prédominaient avec un taux de détection de (28%) suivi de IFVs (17,6%), HPIVs représentaient (10,6%), pour le cas de HCoV nous avons trouvé une fréquence de 4% et enfin RSV (3,83%). Des résultats similaires ont été rapportés par d'autres études : LI *et al*(71) ont trouvé un résultat où les *Rhinovirus/Entérovirus* étaient majoritairement représentés (198/775 soit 25,5%) suivi de VRS (151/775 soit 19,5%), *Para influenza virus 3* (115/775 soit 14,8%), *Influenza A* ou *B* (10,9%), *Adénovirus* (10,8%).

De même pour DIAGNE *et al*(65) qui ont trouvé une prédominance de *Rhinovirus* avec 33%, suivi de VRS (24,8%), *Coronavirus* dans 15,6% de cas et le virus de la grippe (*Influenza A* et *B*) représentait 11,9%.

D'autre part BERRAJAH *et al* (73) ont rapporté une prédominance du VRS dans leur étude, suivi de RhV (32,9%) et de l'AdV (28,5%). Un résultat semblable a été trouvé dans l'étude de DERRAR *et al* (58) où VRS a été majoritairement représenté avec 47,9%.

6. Conclusion et recommandations

6.1. Conclusion

Au cours de cette étude, nous avons détecté un total de 21 types différents de virus et de bactéries sur l'ensemble des échantillons prélevés.

Les enfants de 0-5 ans étaient le plus touchés par les pathogènes respiratoires. Le *rhinovirus* humain (HRV) a été le virus le plus isolé au cours de cette étude (22,50%). Quatre-vingt-deux pour cent (82%) des cas positifs étaient en co-infection soit entre bactérie-bactérie ou entre bactérie-virus ou encore entre virus-virus.

La majorité de cas a été détecté pendant la saison des pluies.

6.2. Recommandation

○ Aux autorités

- Adopter les politiques de renforcement de la capacité financière des chercheurs à établir davantage le profil des pathogènes impliqués dans les affections respiratoires.
- Mettre en place des systèmes de diagnostic rapide pour une bonne prise en charge de ces différentes pathologies.
- Encourager les cliniciens à faire recours en premier lieu au diagnostic biologique pour mieux différencier les maladies des voies respiratoires d'origine virale à celles des bactéries.
- Sensibiliser les populations sur les bonnes pratiques de protection des enfants pendant les périodes endémiques.
- Adopter les politiques d'accompagnement des patients démunies pour leur prise en charge.

○ Aux chercheurs :

- De s'engager de plus dans le domaine de la virologie pour mieux éclairer la voie aux cliniciens pour la meilleure prise en charge de ces pathologies.
- Approfondir les recherches dans l'optique de bien connaître l'étiologie de ces infections respiratoires.
- Donner des opportunités aux jeunes générations dans le domaine de la recherche pour diminuer le problème d'effectif.
- Elargir le champ de cette étude au-delà du district de Bamako, pour y inclure le maximum de patients.

7. Reference

1. Dorin.J. Etude épidémiologique des infections respiratoires virales des hivers 2009 à 2012 en milieu hospitalier et apport des nouvelles technologies au diagnostic viral [Doctorat en Pharmacie. Mémoire du diplôme d'étude spécialisée en Biologie Moléculaire]. [Nancy, France] : Université de Lorraine ; 2011.
2. Dowell, Scott F, Simermann, James M, Erdman, Dean D, et al. Syndrome coronavirus on hospital surfaces. *clinical infectious diseases*. 2004;39(5):652-7.
3. Melinda.NG, Ndungo, Esther, Kaczmarek, Maria E et al. Filovirus receptor NPC1 contributes to species-specific patterns of ebolavirus susceptibility in bats. *Elife*. 2015;4: e11785.
4. WHO. world health statistics 2011. 21 févr 2017; Disponible sur: <http://www.who.int/whosis/whostat/2011/en/>
5. Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Les maladies à virus des voies respiratoires : rapport d'un groupe scientifique de l'OMS (reuni à Genève du 2 au 6 avril 1979). *Who Sci Group Viral Respir Dis World Health Organ* 1980 [Internet]. 1979; Disponible sur: <http://apps.who.int/iris/handle/10665/40980>
6. WHO. world health statistics 2015. 21 février 2017 ; Disponible sur : http://www.who.int/gho/publications/worid_health_statistics/2015/en/
7. Sanogo.B. Etude des infections respiratoires aiguës en milieu communautaire chez les enfants de moins de 5 ans dans les régions de Kayes, Sikasso, Ségou et Mopti. [Doctorat en Médecine]. [Bamako-Mali] : USTTB : Faculté de Médecine, d'Odonto-Stomatologie et Faculté de Pharmacie ; 2009.
8. Catherinot.E; Bron.C; Rivaut,E; Couderc. LJ. Infections respiratoires basses communautaires. In : *La pneumologie fondée sur les preuves Lemarié E* [Internet]. 2013 (27 mars 2013). Hôpital forch-suresnes : Paris : Margaux Orange ; 2013. p. 3-40. Disponible sur : <https://www.amazon.fr>
9. Sallard,E; Halloy.J ; Casane.D; Helden.J.V; Decroly.E ; Retrouver les origines du SARS-CoV-2 dans les phylogénies de coronavirus. *Médecine Sci MS Paris* 2020. sept 2020;36(8-9):783-96.
10. Campbell, James D, Sow.S.O, Levine, Myron M, et al. the causes of hospital admission and death among children in Bamako, Mali. 2004;158-63.
11. Dubois.M. Définition des virus: les virus biologiques [Internet]. Disponible sur: <http://vaccin.sourceforge.net>
12. Boutouba.A. Spécialité : Génétique moléculaire et génomique des microorganismes Thème Les virus Caractéristiques, Classification et multiplication. [République Algérie] : Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie ;
13. Parpaleix.A. Inflammation et maladies pulmonaires : implications pour le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire et pour la vaccination antigrippale [Médecine Humaine et Pathologie]. [France] : Université Paris-Est ; 2016.
14. Lossouarn.J. Découverte et caractérisation des premiers virus de Thermotogales (bactéries thermophiles et anaérobies) issues de sources hydrothermales océaniques profondes. [Microbiologie]. [Brest : France] : Université De Bretagne Occidentale (Ecole Doctorale des Sciences de la Mer ; 2014.
15. Fritz.H ; Kayser.E ; Bottger.C ; Deplazes.P; Haller.O, Roers.A ; Manuel de poche de microbiologie médicale : In : Chapitre V : Virologie Générale : particularités des virus. 2eme édition : Lavoisier médecine-Sciences. France : O. Haller ; 2016. p. 394.
16. Volaharifeno. J.H. Etude épidémiologique des infections respiratoires aiguës chez l'enfant au CSB II d'Isotry Central [Thèse De Doctorat en Médecine]. [Madagascar] : Université d'Antananarivo ; 2015.
17. Thiroux. S. Etudes des infections entre virus et hôtes archéens hydrothermaux hyper thermophiles [Microbiologie]. [Plouzané, France] : Université Sciences Bretagne de la Mer Loire Et du Littoral Occidentale ; 2019.
18. Cycle de réplication du SARS-CoV-2 — Wikipédia – Recherche Google [Internet]. [Cité 01-12-2020]. Disponible sur : https://fr.wikipedia.org/wiki/Cycle_de_r%C3%A9plication_du_SARS-CoV-2
19. FABIEN. C. Devenir à 3 mois des patients hospitalisés au CHU de Toulouse pour une grippe grave durant l'épidémie 2014-2015 [Médecine Générale]. [Toulouse, France] : Université Paul Sabatier : Faculté de Médecine de Toulouse Rangueil; 2015.

20. Janin.H. La grippe durant l'épidémie 2015-2016 : caractère tardifs, gravité clinique et émergence du virus Victoria. B [Thèse de Médecine]. [Bordeaux, France] : Université de Bordeaux : U.F.R des Sciences Médicales ; 2017.
21. Canavaggio.P. Profil clinique d'une cohorte de patients ayant bénéficié d'une recherche de virus A (H1N1) 2009 au SAU d'un hôpital référent au cours de la pandémie 2009 [DES de Médecine Générale]. [Paris, France] : Université Paris Diderot-Paris 7 ; 2011.
22. El Hamdani.M. La grippe est-elle encore le modèle des infections virales émergentes ? [Thèse de Doctorat en Pharmacie]. [Rabat-Maroc] : Université Mohamed V-Souissi : Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat ; 2013.
23. Kuentzmann. K.P. Prise en charge de la grippe saisonnière en cabinet de médecine générale en Alsace [DES de Médecine Générale]. [Strasbourg-Alsace ; France] : Université de Strasbourg : Faculté de Médecine de Strasbourg ; 2019.
24. Chassang.V La grippe et ses traitements et la vaccination [Doctorat en Pharmacie]. [Limoges-France] : Université de Limoges : Faculté de Pharmacie ; 2004.
25. Tsoumbou.T.A.G. Recherche par RT-PCR des virus appartenant à la famille des Paramyxoviridae au sein des sites de conservation de primates non humains au Gabon [Doctorat Veterinaire]. [Dakar - Sénégal] : Université Cheikh Anta Diop de Dakar : Ecole Inter-Etats des Sciences et de Médecine Veterinaire; 2014.
26. DOUSSAL.F. Bronchiolite à virus respiratoire syncytial chez le nourrisson : prise en charge en ville conseils à l'officine. [Doctorat en Pharmacie]. [Rennes, France] : Université de Rennes 1 ; sous le sceau de l'Université Bretagne Loire ; 2016.
27. Kribou.I. Infection à virus respiratoire syncytial (VRS) chez l'adulte à propos d'un cas clinique [Doctorat en Médecine]. [Royaume du Maroc-Rabat] : Université Mohamed V- Rabat : Faculté de Médecine et de Pharmacie RABAT ; 2020.
28. Vabre.C. Infections respiratoires basses liées au virus respiratoire syncytial chez les enfants de moins de trois ans : description de la sévérité de la maladie dans les pays occidentaux et la Chine -Meta-analyse de neuf paramètres cliniques. [Doctorat en Pharmacie]. [Toulouse, France] : Université Toulouse III Paul Sabatier : Faculté des Sciences Pharmaceutiques ; 2019.
29. Coulibaly.H. Aspects épidémiocliniques des infections respiratoires aiguës chez les enfants de 0-59 mois au service de pédiatrie de l'hôpital de Sikasso [Doctorat en Médecine]. [Bamako Mali] : USTTB, Faculté de Médecine et d'Odonto Stomatologie de Bamako ; 2017.
30. Kayser D. S. L. Intérêt d'un test de biologie moléculaire rapide couplant grippe et VRS dans la prise en charge des patients aux urgences et en réanimation [Médecine Générale]. [Strasbourg-Alsace ; France] : Université De Strasbourg : Faculté De Médecine De Strasbourg ; 2020.
31. Moriceau.J. Etude moléculaire du gène G complet du virus respiratoire syncytial humain (HRSV) groupe A circulant en Normandie : Quinze ans d'évolution [Doctorat en Pharmacie]. [Normandie] : Université de Caen Normandie : Faculté des Sciences Pharmaceutiques ; 2019.
32. Bertholom.C. Virus émergent à tropisme respiratoire. Ecole Natl Phys-Chim-Biol-Paris Option Biologie. Avril 2014 ;25(506) :13-5.
33. Maria D. Kerkhove.V Rebecca. G ; Lubna. A. A. Abubakar.A, et Elkholy.A. Syndrome respiratoire du Moyen-Orient : bilan mondial, 2019. Organ Mond Santé OMS Relevé Épidémiologique Hebd. 2019 ;94(48) :561-80.
34. Boukallaba.A. L'infection à coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) [Doctorat en Pharmacie]. [Rabat-Maroc] : Université Mohamed V- Rabat : Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat ; 2016.
35. Chastel.C. Le « syndrome respiratoire du Moyen-Orient » (MERS) qui est responsable, les chauves-souris ou le dromadaire ? Soc Pathol Exot Springer-Verl Fr 2014. 2014 ;107(2014) :69-73.
36. Dibloni.E.N. Le point sur les maladies émergentes et reémergentes en 2014 [Doctorat en Medecine]. [Rabat-Maroc] : Université Mohamed V- Rabat : Faculté de Médecine et de Pharmacie RABAT ; 2014.
37. Malik.M, Elkholy. A.A; Khan.W; Hassounah.S,Abubakar.A; Tran Minh. N and Mala.P. Middle east respiratory syndrome coronavirus: current knowledge and future considerations. Rev Santé Méditerranée Orient. 2016;22(7):533-42.

38. Organisation mondiale de la Santé (OMS). Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV). Disponible sur : www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome.
39. Bossi.P, Guihot.A, Ansart.S, Bricaire.F. Actualité sur le syndrome respiratoire aigu sévère. *Serv Mal Infect Trop Hopital Pitié-Salpêtrière* 47-83 Blvd Hopital 75651 Paris Cedex 13 Fr. oct 2003 ;24(10) :672-80.
40. Hantz.S ; Denis.F. Syndrome respiratoire aigu sévère et autres coronavirus. *CHU Dupuytren Lab Bactériologie-Virol-Hygiène* 2 Ave Martin-Luther-King 87042 Limoges Cedex Fr. 2012 ;15(2) :110-22.
41. Tratner.I. SRAS : 1. Le virus. *SRMS Société Revue Médecine Sciences Ed EDK*. 2003 ;19(8-9) :885-91.
42. Organisation mondiale de la Santé : Genève. Le point sur les épidémies : Syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS). *Wkly Epidemiol Rec*. 21 mars 2003 ;78(12) :81-3.
43. Chidiac.C, Ferry.T. Agents infectieux émergents. *Transfus Clin Biol Serv Mal Infect Trop Hosp Civ Lyon GHN CIRI U1111*. nov 2016;23(4):253-62.
44. Lemarié.E. Syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) : le point à l'ATS. *Rev Mal Respir Serv Pneumol INSERM EMI-U 0010 37040 Tours Cedex Fr*. 2003 ;20(5 ; CAHI 2) :6S67-6S72.
45. Amir.I.J, Lebar.Z, Yahyaoui.G, Mahmoud.M. Covid-19: Virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *OptionBio 2020 Serv Bactériologie Lab Cent Anal Médicales CHU Hassan II Fès Maroc*. Juillet-aout 2020 ;31(619) :15-20.
46. Lapierre.A, Fontaine.G, Trembaly.P.L, Maheu-Cadotte. M.A, Desjardins.M. La maladie à coronavirus (COVID-19) : portrait des connaissances actuelles. *Soins Urgence*. 2020 ;1(1) :13-8.
47. Davenne.E, Giot. J-B, Huynen.P. Coronavirus et COVID-19 : Le point sur une pandémie galopante. *Rev Médecine Liege Serv Microbiol Clin CHU Sart Tilman 4000 Liège Belg*. 2020 ;75(4) :218-25.
48. Devaux.A. Les différents impacts de la COVID-19 sur l'activité des services d'urgences (Etude rétrospective dans le département de médecine d'urgences de Marseille) [DES de Médecine d'Urgence]. [Marseille-France] : Faculté des sciences médicales et paramédicales Aix Marseille Université ; 2020.
49. File : Symptoms of coronavirus disease 2019.png. 28 févr 2020 ; Disponible sur : <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Symptoms-of-coronavirus-disease-2019-2.0svg>
50. Boodman.C, Lagacé-Wiens.P, Bullard.J. Test de dépistage du SRAS-CoV-2. *Cit CMAJ* 2020. 2020 ;192(47) : E1608-E1608.
51. Camellia.C ; Diaconu. Un nouveau coronavirus menace le monde. *Arch Balk Med Union*. Mars 2020 ;55(1) :11-3.
52. Cordey.S, Schiber.M ; Tapparel.C, Kaiser.L. Rhinovirus : diversité clinique et génomique. *Virol 2008 Lab Virol Serv Mal Infect Hopitaux Univ Genève*. 2008 ;12(5) :361-73.
53. Falah.N. Identification et caractérisation de nouveaux inhibiteurs peptidiques de la protéase 2A du rhinovirus humain [Médecine humaine et Pathologie]. [Lyon, France] : Université Claude Bernard-Lyon I. Ecole Doctorale BMIC ; 2013.
54. Mourez.T, Bergeron.A, Legoff.J. Les nouveaux virus respiratoires : de nouveaux pathogènes ? *Lett Infect Tome XXV Lab Bactériologie-Virol Hopital Lariboisière Paris Univ Paris-Diderot*. 2010 ;25(6) :214-9.
55. Gelineau.T. Le rhume de l'enfant et son traitement : décision partagée avec les parents d'après un questionnaire. [DES de Médecine Générale]. [Nantes-France] : Université de Nantes. Faculté de Médecine ; 2011.
56. Messaoudi. M.A. Les viroses respiratoires : épidémiologie, évolution et actualités thérapeutiques [Doctorat en Médecine]. [Royaume de Maroc-Rabat] : Université Mohamed V de Rabat Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat ; 2021.
57. Bonfils.P, Bricaire.F, Chays.A, Queneau.P, Giroud. J.-P, Fraysse.M, Astier.A, Ourabah.R, M. Biour.M, Huy.P.T.B. Rapport 20.04. Les prescriptions médicamenteuses dans le rhume de l'adulte d'origine virale. *Rapp Recomm ANM Bull Académie Natl Med* 2021. 2021; 205(1):18-29.
58. Derrar.F, Izri.K, Kaddache.C, Boukari.R, Hannoun.D. Virology study of acute lower respiratory tract infections in children admitted to the paediatric department of Blida University Hospital, Algeria. *New J New Infect*. 2019;30: SP-100536, EP-100536.

59. Kenmoe.S. Prévalence et diversité génétique des virus respiratoires au Cameroun [Doctorat, Spécialité: Aspects Moléculaire et Cellulaire de la Biologie]. [Caen-France] : Préparée au sein de l'université CAEN Normandie En partenariat international avec l'université de Yaoundé 1 Cameroun ; 2017.
60. Feret.V ; Nauda.J ; Harambata.J ; Malatob.L ; Fleuryb.H ; Fayonb.M. Epidémiologie virale et severite' clinique pendant le pic d'epidemie grippale A(H1N1) variant dans les atteintes respiratoires febriles de l'enfant. Arch Pédiatrie Dép Pédiatrie Médicale Hopital Enfants CHU Pellegrin Fr. juillet 2014 ;21(7) :709-15.
61. Kwofie.T.B; Anane.Y.A.; Nkrumah.B, Annan.A ; Nguah.S.B ; Owusu.M. Respiratory viruses in children hospitalized for acute lower respiratory tract infection in Ghana. Virol J 2012 Biomed Ltd Engl. 2012; 9(1): Sp78-Ep78.
62. Khor.C.S; Ching.S.I; Hooi.P.S; Quek.K-F, Chan.Y-F. Epidemiology and seasonality of respiratory viral infections in hospitalized children in Kuala Lumpur, Malaysia: a retrospective study of27 years. Khoret AIBMC Pediatr. 2012 : 12(1) SP32-EP32
63. EL Ouazzani.K. Le diagnostic moléculaire des agents respiratoires pathogènes chez l'enfant : Impact du Panel respiratoire Filmarray [Doctorat en Médecine]. [Marrakech-Royaume de Maroc] : Université Cadiayyad, faculté de médecine et de pharmacie Marrakech ; 2019.
64. Coulibaly.F. Fréquence des maladies respiratoires au centre de santé communautaire de Magnanbougu (ASACOMA) du district de Bamako [Doctorat en Médecine]. [Bamako Mali]: USTTB, Faculté de medecine et d'odonto stomatologie de Bamako; 2012.
65. DIAGNE.G ; BA.I. D ; NDongo.A.A, Diallo.A.I, N'diaye.M ; Dia.N ; Fall.E, Tall.F ; Kane.A ; Mbaye.A ; Coundoul.A.M ; Kane.M ; Sow.S ;Bop.K, Mbaye.K.A ; Sow.A, Ba.A ; Niang.B ; Dieng. Y.D.K.B., A. Thiongane.A; Deme.I ; Faye.P.M, Fall.A.L ; N'diaye.O. Infections respiratoires aiguës de l'enfant : Etude prospective à propos de 109 cas au CHU de Dakar. Médecine D'Afrique Noire 2020 Prem Rev Int Panafricaine. 2020 ;67(3) :145-53.
66. Dombia.A.K ; Togo P, Coulibaly O, Dembélé A, Sacko K, Maiga B, Cissé ME, Konaté D, Traoré F, Diall H, Coulibaly A, Diakité AA, Dicko FT, Sylla M, Togo B. La bronchiolite aiguë du nourrisson : à propos de 112 cas hospitalisés au département pédiatrie du CHU Gabriel Touré. Revue Malienne Infection Microbiologie 2018 Tome 11. 2018 ; 42-7.
67. Ngombe.L.K ; .Ditunga.M, Kameya,.N ; Malingo.A.A, Kayomb.N.K ; Ngolomba.J, Nday.D.K, Numbi.L. Infection respiratoire aigüe et statut nutritionnel chez les enfants de 0-5 ans: cas des cliniques universitaires de Lubumbashi, République Démocratique du Congo. Pan Afr Med J. 2014; 19 (393) ISSN: 1937-8688.
68. Bobossi.G.S ; Godya.J-C, Fioboya.R; Nakoune.E. Etiologie virale des infections respiratoires aiguës de l'enfant à` Bangui. Arch Pédiatrie Organe Off Soc Francaise Pédiatrie. 2015 ;22(3) :324-5.
69. Maïnassara.H.B, Lagaré.A , Issaka.B, Sidiki.A, Sidikou.B.A, Moulia.J-P ; Pelat et Ouwe.O ; Oukem-B.M. Caractéristiques épidémiologiques de la grippe au Niger de Janvier à Décembre 2013. An Univ Abdou Moumouni Tome XVII- 2 ème Semestre 2014. Juillet 2014 ;79-89.
70. Bakonde.B ; Tatagan.K ; Kessie.K ; Kafechina. A.B.L ; Assimadi.K, Paupe.J ; Scheinmann.P. Epidémiologie hospitalière des infections respiratoires aiguës (IRA) basses chez le nourrisson et l'enfant togolais. Médecine Afr Noire. 1998 ; 45(7) 435-439.
71. Lb.; Tao.Y, Tang.M; Dub, Xia.Y, Mo., Cao.Q. Rapid detection of respiratory organisms with the FilmArray respiratory panel in a large children's hospital in China. BMC Infect Dis. 2018;18(1):1-7.
72. Annan.A; Ebach.F; Corman.V.M, Krumkamp.R, Adu-Sarkodie.Y, Eis-Hübinger.A.M; Kruppa.T; Simon.A, May.J, Evans.J, Panning.M; Drosten.C; Drexler.J.F. Similar virus spectra and seasonality in paediatric patients with acute respiratory disease, Ghana and Germany. Clin Microbiol Infect. 2016;22(4):340-6.
73. Berrajah.L.F; Ben Slama.K.A, Khbou.I, Gargouri.S, Chtourou.A; Znazen.A; Kassis.M, S. Yaich.S; Hammami.A; Hachicha.M, Vabret.A; Karray H.H. Virus et bactéries atypiques détectés dans les infections respiratoires basses communautaires de l'enfant dans la région de Sfax en Tunisie* Virus and Atypical Pathogens Detected in Community-Acquired Lower Respiratory Tract Infection in Infants and Children of Sfax Région, Tunisie. Bull Soc Pathologie Exotique. 2018 ;111(2) :90-8.

8. Annexes

FICHE DE CONSENTEMENT ECLAIRE

Titre de l'étude : Etude du spectre des virus des voies respiratoires dans l'aire sanitaire de Yirimadio.

Coordinateur : Abdoul Karim SANGARE, MD, PhD (Tel : +22366239834)

Investigateur principal : Bourèma KOURIBA, PharmD, PhD (Tel : +22366753728)

Je confirme que j'ai lu (ou que je me suis fait lire) et que j'ai compris pourquoi et comment cette étude sera réalisée. J'ai pu poser toutes les questions et j'ai reçu des réponses satisfaisantes. Je dis que ma participation n'est pas forcée et je comprends que je suis libre de quitter l'étude sans être obligé de dire pourquoi et cela n'affectera pas ma prise en charge dans le centre de santé.

Je permets que des informations personnelles et des données soient recueillies pendant l'étude, et qu'elles puissent être examinées par des personnes impliquées dans l'étude et/ou les collaborateurs de l'étude et/ou par les Autorités de santé, mais de façon confidentielle et anonyme.

Si vous acceptez de participer à cette étude, veuillez signer/ ou apposer votre empreinte digitale du pouce ou index gauche sur la partie appropriée de ces documents.

Vous garderez une copie de ces documents avec vous pour témoignage de votre acceptation à participer à cette étude.

Signature ou empreinte digitale du patient

Date :

Nom du participant

Nom et signature de l'investigateur

Date :

A compléter si le participant, parent/tuteur du participant n'est pas alphabétisé en Français :

Témoignage de l'interview du consentement :

Je soussigné, témoin du consentement éclairé ci-dessus pour l'étude du spectre des virus des voies respiratoires au Mali, atteste qu'à la date indiquée à côté de ma signature, le contenu de la notice d'information du participant a été clairement expliqué au participant et que l'intéressé a indiqué que ses questions et inquiétudes ont été répondues de façon appropriée.

Nom et signature du témoin :

Date :

Témoignage de la signature par le participant :

Je soussigné, témoin de la signature (marque ou empreinte digitale) atteste qu'à la date indiquée à côté de ma signature, le participant a marqué de son empreinte digitale le formulaire de consentement éclairé pour l'étude ci-dessus.

Nom et signature du témoin :

Date :

FICHE D'ASSENTIMENT ECLAIRE

Titre de l'étude : Etude du spectre des virus des voies respiratoires dans l'aire sanitaire de Yirimadio

Coordinateur : Abdoul Karim SANGARE, MD, PhD (Tel : +22366239834)

Investigateur principal : Bourèma KOURIBA, PharmD, PhD (Tel : +22366753728)

Je confirme que j'ai lu (ou que je me suis fait lire) et que j'ai compris pourquoi et comment cette étude sera réalisée. J'ai pu poser toutes les questions et j'ai reçu des réponses satisfaisantes. Je dis que ma participation n'est pas forcée et je comprends que je suis libre de quitter l'étude sans être obligé de dire pourquoi et cela n'affectera pas ma prise en charge dans le centre de santé.

Je permets que les informations personnelles et des données soient recueillies pendant l'étude, et qu'elles puissent être examinées par les personnes impliquées dans l'étude et/ou les collaborateurs de l'étude et ou par les Autorités de santé, de façon confidentielle et anonyme.

Si vous acceptez de participer à cette étude, veuillez signer/ou apposer votre empreinte digitale du pouce ou index gauche sur la partie appropriée de ces documents.

Vous garderez une copie de ces documents avec vous pour témoignage de votre acceptation à participer à cette étude.

Signature ou empreinte digitale du participant

Nom du participant

Nom et signature de l'investigateur

A compléter si le participant, parent/tuteur du participant n'est pas alphabétisé en Français.

Témoignage de l'interview du consentement :

Je soussigné, témoin de l'assentiment ci-dessus pour l'étude du spectre des virus des voies respiratoires au Mali, atteste qu'à la date indiquée à côté de ma signature, le contenu dudit formulaire a été clairement expliqué au parent/tuteur du participant et que l'intéressé a indiqué que ses questions et inquiétudes ont été répondues de façon approprié.

Nom et signature du témoin : _____

Témoignage de la signature par le parent /tuteur du participant :

Je soussigné, témoin de la signature (marque ou empreinte digitale) atteste qu'à la date indiquée à côté de ma signature, le parent/tuteur du participant a marqué de son empreinte digitale le formulaire de consentement pour l'étude ci-dessus.

Nom et signature du témoin : _____

Date :

FICHE D'INFORMATION DU PARTICIPANT

Titre de l'étude : Etude du spectre des virus des voies respiratoires dans l'aire sanitaire de Yirimadio

Coordinateur : Abdoul Karim SANGARE, MD, PhD (Tel : +22366239834)

Investigateur principal : Bourèma KOURIBA, PharmD, PhD (Tel : +22366753728)

Nom des institutions de recherche : Le Centre d'Infectiologie Charles Mérieux (CICM) de Bamako-Mali, et l'Institut de la Biologie des Pathogènes (IPB) de Beijing, Chine.

Prénom et nom du participant : _____

Numéro du participant : _____

Si vous décidez de participer, vous serez toujours libre d'arrêter votre participation ou celle de votre enfant quand vous le souhaitez sans avoir à le justifier et cela n'affectera pas votre pris en charge.

Introduction :

Nous vous invitons, vous ou votre enfant à prendre part à une étude de recherche. Pour vous aider à décider si vous (ou votre enfant) souhaitez participer, nous vous expliquons pourquoi nous faisons cette étude, et ce qu'elle implique. S'il y'a quelque chose que vous ne comprenez pas, posez des questions jusqu'à ce que vous soyez satisfait. Prenez le temps de décider si oui ou non vous souhaitez participer à cette étude.

Pourquoi fait-on cette étude ?

Parmi les maladies infectieuses, celles qui affectent les voies respiratoires sont les plus fréquentes et sévères dans les régions tropicales. Elles tuent plus d'enfants et de sujets âgés dans les pays en développement que dans d'autres parties du monde. Au Mali, les maladies respiratoires causées par les virus sont souvent mal diagnostiquées, donc mal traitées et n'ont pas de vaccins. Le CICM-Mali et l'IPB de Chine font cette étude pour rechercher les causes de ces maladies virales dans votre localité. Ainsi, les informations de cette étude aideront à améliorer la surveillance des virus qui affectent les voies respiratoires au Mali.

Pourquoi vous avez été choisi ?

Nous avons besoin de 170 patients dans chaque groupe d'âge dans votre localité soit environ 700 personnes pour cette étude pour le district de Bamako. Vous avez été choisi aussi pour participer à cette étude par ce que vous êtes malades et vous êtes venus vous consulter.

Est-ce que vous ou votre enfant pouvez participer ? Que se passe-t-il si vous changez d'avis ?

Vous (ou votre enfant) pouvez votre prise en charge ou celle de votre enfant dans le centre de santé. Si vous décidez de participer à cette étude, vous aurez à signer ou mettre votre empreinte digitale sur le formulaire de consentement.

En quoi consiste cette étude ?

Si vous êtes d'accord pour participer à cette étude, nous prendrons un échantillon de sang (environ 1 à 2 cuillerées à café) au pli du coude (ou sur le dos de la main) en plus d'un écouvillon naso-pharyngé. Nous vous poserons quelques questions sur l'âge, la date de naissance, toute maladie récente et tout voyage, et la présence d'animaux ou de rongeurs dans la concession.

Frais et paiements

Il n'y aura pas de bénéfice direct (paiement ou compensation en nature) pour la participation à cette étude.

Quels sont les risques ou les inconvénients de la participation ?

La piqûre pli du coude (ou au dos de la main) peut causer de l'inconfort, mais est sans danger et se fera par un personnel formé en toute sécurité pour minimiser l'inconfort.

Quels sont les avantages de la participation ?

Si vous (ou votre enfant) êtes malades, nous allons tester toutes les maladies virales respiratoires émergents, et si un test est positif, nous vous traiterons gratuitement. Vous n'aurez donc rien à payer pour le diagnostic des maladies virales respiratoires ni pour le traitement éventuel.

Ce qui se passera pour les échantillons prélevés dans cette étude ?

Nous allons les analyser au laboratoire pour voir s'ils contiennent des virus respiratoires de votre maladie. Ces tests pourront être faits par nos collaborateurs à l'extérieur du pays (Chine) en leur envoyant une partie des échantillons. Votre nom ou celui de votre enfant ne sera pas lié à l'échantillon afin que personne ne puisse vous identifier. Nous allons également garder une partie de l'échantillon pour d'autres analyses ultérieures au besoin pour mieux comprendre ces maladies. Vous avez aussi le droit de demander à tout moment de détruire votre échantillon.

Comment vos dossiers personnels demeurent confidentiels et qui y aura accès ?

Les renseignements personnels que nous recueillerons sur vous resteront confidentiels. Les seules personnes qui seront autorisées à consulter les informations seront les chercheurs de l'étude.

Qui organise et finance cette recherche ?

L'étude est organisée par le CICM-Mali en collaboration avec l'IPB de Chine. Le travail est financé par l'IPB et la fondation Mérieux dans le cadre du renforcement du system national de surveillance épidémiologique des maladies virales au Mali.

Qui a prouvé l'étude ?

L'étude a été approuvée par le comité d'Ethique de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS).

Avez-vous maintenant des questions ? Si vous avez des questions plus tard sur l'étude, vous pouvez contacter le coordinateur et les chercheurs principaux indiqués ci-dessus ou vous pouvez aussi contacter les membres du **comité d'éthique** de la **FMPOS** au point G, Bamako (tel :20225277) par exemple le président du comité d'Ethique, **Prof. Mamadou Marouf Keita (tel : 66722022)** : ou le secrétaire Permanent, **Prof. Mahamadou Diakité** (Tel : 20225277, cellulaire : 76231191) pour répondre à vos questions.

Technique de la PCR (Polymérase Chain Réaction)

Définition

En 1983, Karry Mullis met au point la technique d'amplification de l'ADN ; la PCR (Polymerase Chain Reaction ou Réaction de Polymérisation en Chaîne). C'est une réaction enzymatique qui permet de sélectionner puis d'amplifier en une très grande quantité un fragment d'ADN particulier, présent en très faible quantité au départ, parmi des millions d'autres fragments.

Aujourd'hui c'est une technique incontournable et couramment utilisée en routine dans les laboratoires.

Principe

La PCR est une suite de cycles, qui se répètent en boucle, comportant chacun trois paliers de températures. De plus chacun de ces paliers est caractérisé par une réaction chimique distincte. En moyenne une PCR comporte entre 20 et 40 cycles.

Réaction PCR

En effet, la réaction de PCR se déroule dans un thermo-cycler.

Cependant, l'appareil est programmé pour effectuer les différents cycles de la PCR. Ainsi chaque cycle est composé d'une succession de paliers de température prédéterminé, et d'une durée bien définie. Ces deux paramètres, température et temps dépendent de la taille de la séquence à amplifier, de la taille et de la composition en désoxyribonucléotides des amorces. Chaque cycle est donc constitué des trois périodes différentes : **dénaturation, hybridation, et l'élongation.**

La dénaturation

A cette période, la température dans le tube est réglée à 95°C. A cette température, l'ADN se dénature et perd sa structure caractéristique en double hélice, car les liaisons hydrogènes reliant les bases de chaque brin d'ADN sont instables à cette température. Ainsi l'ADN double brin (2brins) est dénaturé en ADN simple brin (1 brin).

L'hybridation

A cette phase, la température chute de 95°C pour atteindre la température dite hybridation. Cette dernière est généralement comprise entre 50°C et 60°C et est fonction de la composition en désoxyribonucléotides (dATP, dTTP, dGTP et dctp) des amorces. Les amorces reconnaissent et se

fixent à leurs séquences complémentaires en réformant des liaisons hydrogènes. On dit que les amorces s'hybrident au brin d'ADN.

L'élongation

A cette période, la température est égale à 72°C, la température idéale pour l'activité de la Taq polymérase. C'est une enzyme très spéciale, puisqu'elle est dite thermorésistante. En effet, sa température optimale d'action est de 72°C et elle est capable de résister à des températures allant jusqu'à 100°C. Cette étape permet à la Taq polymérase de synthétiser le brin complémentaire à l'ADN matrice, grâce aux **dNTPs** libres présents dans le milieu réactionnel.

Au cycle suivant, les nouveaux fragments synthétisés servent à leur tour de matrice pour la synthèse de nouveaux fragments d'ADN.

En théorie, à la fin de chaque cycle la quantité d'ADN cible est double. Cela pourrait se produire 30 fois (en fonction du protocole de PCR).

9. Fiche Signalétique

Nom: TOGOLA

Section: Pharmacie

Prénom: Mahamadou

Secteur d'intérêt: virologie

E-mail: togolaseyba1990@gmail.com

Contact Tel:

Année Universitaire: 2020-2021

78341627/69523421

Lieu de Dépôt: Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie et la Faculté de Pharmacie de Bamako

Titre de Thèse: Spectre des virus des voies respiratoires dans l'aire sanitaire de l'hôpital du Mali et du CSCom de Yirimadio.

Résumé

Introduction et objectifs: Les maladies virales respiratoires constituent un enjeu majeur de santé publique du fait de leur incidence sur le plan mondial, la facilité de dissémination dans la communauté avec une mortalité et morbidité significatives. Il existe des données très limitées sur les infections virales respiratoires émergents et ré émergents au Mali et à notre connaissance aucune étude n'a évalué le spectre des virus associés aux infections des voies respiratoires. Ainsi le but de notre travail était d'étudier la diversité des virus associés aux infections des voies respiratoires en utilisant les outils moléculaires.

Matériels et méthodes: Divers agents pathogènes virus respiratoires ainsi que de bactéries (bien que celle-ci ne soient pas le sujet de cette étude) ont été isolés des échantillons naso-pharyngés à partir des méthodes d'utilisation des outils moléculaires plus précisément RT-PCR.

Résultats : Notre étude a porté sur 600 patients dont 177 à l'hôpital du Mali et 423 au CSCom de Yirimadio. Parmi les 600 patients inclus à cette étude, 512 (85,3%) étaient positifs aux agents pathogènes. Ces agents pathogènes étaient au nombre de 23 (virus et bactéries) sur l'ensemble des échantillons groupés. La mono-infection virologique a été détectée sur 93 échantillons soit un total 15,5%. La co-infection bactérie-virus sur 291 échantillons ce qui représentent 48,5%. Une détection conjointe virus-virus fut détectée sur 13 échantillons (2,1%) et en fin une détection conjointe bactérie-bactérie sur 28 échantillons (4,6%) dans l'ensemble des deux sites regroupés. Parmi les virus identifiés l'*Entérovirus* (EVs) était prédominant avec un taux de 28%, suivi de *Influenza virus*(IFVs) 17,6%, *Para influenza virus*(HPIVs) 10,6%, *Coronavirus* humain (HCoV) 4%, et enfin le virus respiratoire *syncytial*(RSV) représentait 3,83% reparti entre RSVA (3,5%) et RSVB (0,33%).

Conclusion : Au cours de cette étude, 21 types différents de virus et de bactéries ont été isolés sur l'ensemble des échantillons prélevés. Le *rhinovirus* humain était le plus isolé (22,50%) et quatre-vingt-deux pour cent (82%) des cas positifs étaient en co-infection soit entre bactérie-bactérie ou entre bactérie-virus ou encore entre virus-virus.

Mots Clés: Spectre, virus, voies, respiratoires, aire sanitaire, hôpital du Mali, CSCom de Yirimadio.

Abstract

Introduction and objectives: Respiratory viral diseases constitute a major public health issue because of their worldwide impact, the ease of dissemination in the community with significant mortality and morbidity. There are very limited data on emerging and re-emerging respiratory viral infections in Mali and to our knowledge no study has evaluated the spectrum of viruses associated with respiratory tract infections. Thus the aim of our work was to study the diversity of viruses associated with respiratory tract infections using molecular tools.

Materials and methods: various respiratory virus pathogens as well as bacteria (although these are not the subject of this study) were isolated from nasopharyngeal samples using molecular tools, more specifically RT-PCR.

Results: our study involved 600 patients including 177 at the hospital in Mali and 423 at the cscom of Yirimadio. Among the 600 patients included in this study, 512 (85.3%) were positive for pathogens. These pathogens were 23 (virus and bacteria) on all the pooled samples. Virological mono-infection was detected on 93 samples, which represents 48.5%. Joint virus-virus detection was detected on 13 samples (2.1%) and at the end joint bacteria-bacteria detection on 28 samples (4.6%) in all of the combined sites. Among the viruses identified, *Enterovirus* (EVs) was predominant with a rate of 28% followed by *influenza virus* (IFVs) 17.6%, *para influenza virus* (HPIVs) 10.6%, human *coronavirus* (HCoV) 4%, and at the end of the respiratory syncytial virus (RSV) represented 3.83% distributed between RSVA (3.5%) and RSVB (0.33%).

Conclusion: During this study, 21 different types of viruses and bacteria were isolated from all the samples taken. The human *Rhinovirus* was the most isolated (22.50%) and eighty-two percent (82%) of the positive cases were in co-infection either between bacteria-bacteria or between bacteria-virus or even between viruses-viruses.

Keywords: Spectrum, virus, way, respiratory, sanitary area, Mali hospital, cscom of Yirimadio.

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'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque ! Je le jure !