

Ministère de l'enseignement  
Supérieur et de Recherche  
Scientifique

République du Mali

**Un Peuple-Un But-Une Foi**



**U.S.T.T-B**

Université des Sciences, des Techniques et des  
Technologies de Bamako

USTTB

Faculté de Pharmacie FAPH



# CARACTERISTIQUES VIROLOGIQUE DU SARS-CoV-2 DANS LES CENTRES DE PRISE EN CHARGE DE LA COVID-19 AU MALI ET EN GUINEE

Thèse :

Présentée et soutenue publiquement le.../.../2022 devant le jury de la Faculté de Pharmacie  
par :

**M. Youssouf COULIBALY**

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

Jury :

Président : Pr Daouda. K. MINTA

Membres : Dr Antoine DARA

Dr Anou Moise SOMBORO

Co-Directeur : Dr Ibrehima GUINDO

Directeur : Dr Almoustapha I. MAIGA



# FACULTE DE PHARMACIE

## LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE ANNEE UNIVERSITAIRE 2020-2021

### ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-doyen : Sékou BAH, Maître de Conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

Agent comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances.

### PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
3	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
4	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
5	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
6	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
7	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
8	Boukassoum	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	Saïbou	MAÏGA	Législation
16	Elimane	MARIKO	Pharmacologie
17	Mahamadou	TRAORE	Génétique
18	Sékou Fantamady	TRAORE	Zoologie

### PROFESSEURS DECEDES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	CISSE	Biologie
2	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
3	Moussa	HARAMA	Chimie analytique

## **DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES**

### **1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
3	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
4	Alassane	DICKO	Santé Publique
5	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
6	Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
7	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique/Nutrition
8	Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
9	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

### **2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
2	Kassoum	KAYENTAO	Santé publique/ Bio-statistique
3	Bourèma	KOURIBA	Immunologie <b>Chef de DER</b>
4	Almoustapha Issiaka	MAÏGA	Bactériologie-Virologie
5	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
6	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique
7	Ousmane	TOURE	Santé Publiq/Santé environnement

### **3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE**

<b>N°</b>	<b>PRENOMS</b>	<b>NOM</b>	<b>SPECIALITE</b>
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie Clinique
6	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
7	Souleymane	DAMA	Parasitologie -Mycologie
8	Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
9	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
10	Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
11	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
12	Yaya	GOÏTA	Biochimie Clinique
13	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie virologie
14	Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
15	Birama Aphi	LY	Santé publique
16	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
17	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
18	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

#### 4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
4	Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEÏTA	Santé publique/Santé Environnement
6	N'Deye Lallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

#### DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES

##### 1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie <b>Chef de DER</b>

##### 2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	-

##### 3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE

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



#### 4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
----	---------	-----	------------

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 pharmaceutiques
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
12	Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
13	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

### **DER : SCIENCES DU MEDICAMENT**

#### **1. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique <b>Chef de DER</b>
2	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

#### **2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie

#### **3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE**

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



#### **4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique

3	Blaise	DACKOOU	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. PROFESSEUR/DIRECTEUR DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie/ Chef de DER

**2. MAITRE DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée

**3. MAITRE ASSISTANT/CHARGE DE RECHERCHE**

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

**4. ASSISTANT/ATTACHE DE RECHERCHE**

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



**CHARGES DE COURS (VACATAIRES)**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie

3	Souleymane	COULIBALY	Psychologie
4	Yacouba M	COULIBALY	Droit commercial
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Moussa I	DIARRA	Biophysique
7	Babacar	DIOP	Chimie organique
8	Aboubakary	MAÏGA	Chimie organique
9	Modibo	SANGARE	Anglais
10	Satigui	SIDIBE	Pharmacie vétérinaire
11	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
12	Fana	TANGARA	Mathématiques
13	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
14	Mamadou B	TRAORE	Physiologie
15	Boubacar	ZIBÉIROU	Physique

**Bamako, le 07 septembre 2021**

**P/Le Doyen PO  
P/Le Secrétaire Principal PO  
Le Chargé des examens**

**Dr Issa COULIBALY  
Maître-assistant**



## **Dédicaces**

### **A ma mère Tene MARICO**

Ta générosité et ton humanisme envers tes enfants sont sans limites. Tes prières et bénédictions nous ont accompagnés tout au long de notre formation. Ce travail est le fruit de tes efforts de tous les jours sans faille dans notre éducation. Merci encore une fois, que Dieu t'accorde une longue vie pleine de bonheur, Amina.

### **A ma mère Magassic COULIBALY**

Ta modestie, ta clémence, ta générosité et ton humanisme envers tes enfants sont inestimables. Ce travail est le fruit de tes efforts, ta persévérance et ton soutien indéfectible pour la réussite de tes enfants. Merci pour l'éducation que tu nous as léguée, que le Tout Puissant te donne une longue vie pleine de bonheur pour qu'on puisse bénéficier encore de tes conseils, Amina.

### **A mon père Chaka COULIBALY**

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grace à toi j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je te remercie pour ton amour, ta générosité, ta compréhension. Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. J'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

### **A mon père feu Dr Zancoura COULIBALY**

Nous n'avons pas eu la chance que vous assistiez à la fin de nos études. Vos sacrifices et votre bonté nous accompagnent même en votre absence. Merci père, puisse votre âme reposer en paix et que le tout-puissant vous accueille en son paradis, Amina.

## Remerciements

**A mes frères et sœurs de Bamako, de Dioila et Massigui,** Mahamadou COULIBALY, Seydou COULIBALY, Yacouba Coulibaly, Issiaka M'Bo COULIBALY, Assetou COULIBALY, Benta COULIBALY, Moussa COULIBALY, Dr Seydou COULIBALY, Drissa COULIBALY, Aissata TANGARA, Dr Broulaye DIARRA, vos conseils, vos encouragements et votre accompagnement moral et financiers ne m'ont jamais manqué. Que le Tout Puissant nous donne une longue vie et bénisse notre union, Amina.

**Au Pr Almoustapha MAIGA,** vous m'avez accueilli à bras ouverts malgré vos multiples occupations. Merci cher Maître pour votre humilité, votre disponibilité, votre simplicité et vos encouragements. Que le Tout Puissant vous bénisse et vous accorde une longue et heureuse vie, Amina.

**Au Dr Oumar DOLO,** nous sommes très heureux de nous compter parmi vos élèves. Votre générosité, votre sympathie, votre simplicité envers nous vos internes, votre détermination de former et votre dévouement pour votre travail, font de vous un maître exceptionnel, merci pour votre soutien sans faille. Qu'Allah vous récompense en bien.

**Au Dr Anou SOMBORO,** je vous remercie pour votre confiance, à vos côtés, nous avons appris beaucoup de techniques et surtout appris les bonnes pratiques du laboratoire. Merci pour votre générosité, votre disponibilité et vos conseils. Que Dieu vous bénisse et nous donne une longue et heureuse vie pour en bénéficier davantage, Amina.

**Aux Dr Tata TRAORE et Dr Josué TOGO,** merci de nous avoir donné la chance d'apprendre à vos côtés. Vos encouragements et vos conseils nous ont énormément aidés. Que Dieu vous le rende, Amina.

**Au Dr Amadou KODIO,** pour m'avoir accordé du temps sans jamais vous plaindre, cela me touche au plus profond de moi. Ta sympathie, ta simplicité, tes conseils et ton encadrement nous ont permis d'être à la hauteur des attentes. Merci pour tout.

**A tout le personnel de l'UCRC,** particulièrement à M. Dramane DIALLO, Dr Basirou DIARRA, Pr Amadou KONE, Dr Djeneba DABITAO, Mamadou KONE, Dr Mamadou WAGUE, Dr Bourama KONE, Vos conseils et vos encouragements m'ont été d'une grande utilité. Merci pour votre gentillesse et votre disponibilité. Recevez ici mes sincères salutations ainsi que ma reconnaissance.

**A mes Co-équipiers**, Dr Sory KEITA, Mlle Bintou TRAORE, Lydi P, Mlle Ornella TRA, Mme Oumou MAIGA, Mme Salimata OUEDRAOGO, Mlle Penda DEMBELE. Ce travail est aussi le vôtre. Merci pour tout.

**A l'équipe de la Pharmacie WASSA Daoudabougou**, particulièrement à Dr Aliou Badra WADE, Dr Soumaila SIDIBE, M. Aladji KODIO, M. Demba BAH, vos conseils, vos soutiens et vos encouragements m'ont été d'une grande utilité. Merci.

**Aux familles COULIBALY à Bamako et TOGOLA à Dioila**, Vous m'aviez accueilli lorsque je n'avais plus d'espoir de continuer mes études, votre accompagnement et votre soutien n'ont pas manqué tout au long de notre étude. Merci pour votre générosité, votre amour, vos encouragements et vos conseils, que Dieu vous le rende, Amina.

**Aux belles familles**, particulièrement à **la famille MAIGA de Bamako** votre confiance, vos conseils, vos soutiens et vos encouragements m'ont été d'une grande utilité. Recevez ici mes sincères salutations ainsi que ma reconnaissance.

**A mes Amis de la faculté**, Dr Abdourahamane TRAORE, Boubacar Elmadane CISSE, Mahamadou OUEDRAGO, Dr Amadou DIALLO, Dr Salimata KANTE, Almoustapha CISSE, Dr Souleymane KAMISSOKO. Merci pour les bons moments que nous avons passés ensemble.

**A tous mes camarades de l'école**, particulièrement à Adama MARICO et Moussa DIABATE, vos encouragements m'ont motivé à poursuivre mes études. Merci pour tout.

**A tous mes amis de Bamako**, Dr Souleymane KABA, Dr Mamadou SIDIBE, Dr Mohamed NANTOUME. Merci pour vos encouragements tout au long de ce travail.

**A ma famille la cité verte et la famille DEMBELE du Point G**, particulièrement, à Mme DEMBELE Aissata COULIBALY, vous m'aviez accepté en tant que l'un des vôtres. Merci pour vos soutiens, vos conseils et vos encouragements.

**A tout le personnel de l'hôpital du Point G**

**A tout le personnel de l'Hôpital du Mali**

## **HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY**

A notre Maître et Président du jury **Professeur Daouda K MINTA**

- ✓ Professeur Titulaire des universités ;
- ✓ Agrégé de Maladies Infectieuses et tropicales ;
- ✓ Praticien Hospitalier ;
- ✓ Directeur du centre d'Excellence de Lutte contre le VIH adulte ;
- ✓ Chercheur au DEAP/MRTC/FMOS-Mali ;
- ✓ Président du Comité Scientifique VIH du Mali ;
- ✓ Vice-président de la société Africaine de pathologies infectieuses ;
- ✓ Président de la Société Malienne de Contrôle de Résistance aux Antimicrobiens (SOMARAM).

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous avez fait en acceptant de présider le jury de cette thèse. Nous avons eu le grand privilège de bénéficier de votre enseignement lumineux durant nos années d'études. Nous vous prions de bien vouloir, cher Maître, accepter le témoignage de notre profonde reconnaissance pour le grand honneur que vous nous faites en présidant notre thèse.

A notre Maître et Directeur **Dr Almoustapha Issiaka MAIGA**

- ✓ Responsable de l'unité d'épidémiologie moléculaire de résistance du VIH aux ARV du SEREFO ;
- ✓ Chef de Département de Biologie Médicale du CHU Gabriel Touré ;
- ✓ Secrétaire General, de l'Association Africaine de lutte contre la Résistance aux Antimicrobiens (AAARAM) ;
- ✓ Membre de plusieurs sociétés savantes internationales sur le VIH dans le monde,
- ✓ Maitre Charge de Recherche CHU Gabriel Touré.

Honorable maître, C'est un privilège et un grand honneur que vous nous avez fait en acceptant de diriger ce travail. Vos compétences professionnelles, vos qualités scientifiques et humaines, votre simplicité, votre amabilité, font de vous un maitre unique. Recevez cher maître avec tout le respect et toutes les considérations nos humbles remerciements.

A notre Maître et Co-directeur **Docteur Ibréhima GUINDO**

- ✓ Pharmacien Microbiologiste ;
- ✓ Maître-Assistant de Bactériologie-Virologie à la Faculté de Pharmacie ;
- ✓ Chef de Département laboratoire et de recherche biomédicale à l'Institut National de Santé Publique (INSP).

Cher Maître, Vous avez été d'un apport indispensable à ce travail par non seulement vos qualités scientifiques mais aussi par votre soutien infaillible pour l'amélioration de la qualité du document. Votre courtoisie, votre humilité, votre sens du travail bien fait font de vous une référence. Recevez ici nos sincères remerciements et profondes gratitude envers votre personne.

A notre Maître et juge **Docteur Antoine DARA**

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

Cher Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations.

Vos qualités intellectuelles et votre disponibilité nous laisse le souvenir d'un maître exemplaire et modeste.

Trouvez ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et juge **Docteur Anou Moise SOMBORO**

- ✓ Docteur en Pharmacie ;
- ✓ PhD en Sciences Pharmaceutique ;
- ✓ Chercheur Associé à UCRC à la USTTB.

Cher Maître,

Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de siéger dans ce jury.

Homme ouvert et pragmatique, votre compétence et vos remarques ont su conduire ce travail à son terme.

Merci pour votre contribution à l'amélioration de ce travail. Ce fut un grand honneur

# Table des matières

<b>1. INTRODUCTION</b> .....	1
<b>2. OBJECIFS</b> .....	3
2.1. Objectif général .....	3
2.2. Objectifs spécifiques.....	3
<b>3. GENERALITES</b> .....	4
3.1. Historique de la famille et taxonomie du SRAS-CoV-2.....	4
3.2. Structure génomique et propriétés du SARS-CoV-2 :.....	5
<b>3.2.1. Les protéines structurales :</b> .....	6
<b>3.2.2. Les protéines non structurales :</b> .....	8
<b>3.2.3. Propriétés physicochimiques du SRAS-CoV-2 :</b> .....	9
<b>3.2.4. Diversité génétique et variabilité</b> .....	10
<b>3.2.5. Répartition géographique du SARS-CoV-2 :</b> .....	16
3.3. Multiplication virale .....	17
3.4. COVID-19 .....	19
<b>3.4.1. Epidémiologie</b> .....	19
<b>3.4.2. La mode transmission :</b> .....	21
<b>3.4.4. La physiopathologie de la maladie de COVID-19</b> .....	22
<b>3.4.5. Manifestations cliniques</b> .....	23
3.5. Le diagnostic de la maladie de COVID-19.....	24
<b>3.5.1. Diagnostic clinique :</b> .....	24
<b>3.5.2. Diagnostic biologique</b> .....	25
<b>3.5.3. SEQUENCAGE :</b> .....	38
3.6. Prise en charge de la maladie.....	45
3.7. La mode Prévention : .....	47
<b>3.7.1. Les mesures barrières</b> .....	47
<b>3.7.2. Vaccins :</b> .....	48
<b>4. MATERIELS ET METHODE :</b> .....	50
4.1. Cadre et lieu : .....	50
4.2. Période de l'étude .....	53
4.3. Type d'étude.....	53
4.4. Population d'étude.....	53
4.5. Echantillonnage .....	53
<b>4.5.1. Critères d'inclusion :</b> .....	53
<b>4.5.2. Critères de non-inclusion :</b> .....	54
4.6. Considérations éthiques :.....	54

<b>4.6.1. Le comité éthique</b> .....	54
<b>4.6.2. Sensibilisation et consentement des patients</b> .....	54
4.7. Déroulement du travail .....	54
<b>4.7.1. Prélèvement et les caractéristiques cliniques</b> .....	54
<b>4.7.2. Condition de transport des échantillons :</b> .....	55
<b>4.7.3. Au laboratoire :</b> .....	56
4.8. Séquençage du génome entier.....	56
4.9. Saisie et analyse des données .....	58
<b>5. RESULTATS</b> .....	59
5.1. Caractéristiques socio-démographiques .....	60
5.2. Caractéristiques cliniques.....	63
5.3. Suivi de l'évolution des patients.....	68
5.4. Séquençage du génome entier.....	69
<b>6. COMMENTAIRE ET DISCUSSION :</b> .....	72
<b>8. Conclusion :</b> .....	78
<b>9. Recommandations :</b> .....	79
<b>11. Références :</b> .....	80
<b>12. Annexe</b> .....	86
<b>11. Fiche signalétique</b> .....	93

## La liste des tableaux

<b>TABLEAU 1 : LA CLASSIFICATION DES VARIANTS DE SRAS-COV-2 SELON OMS, NEXTSTRAIN ET PANGO .....</b>	<b>12</b>
<b>TABLEAU 2 : LA LISTE DES VACCINS HOMOLOGUÉS PAR L'OMS .....</b>	<b>49</b>
<b>TABLEAU 4 : DOMAINES ET VARIABLES DE L'ENQUÊTE .....</b>	<b>55</b>
<b>TABLEAU 5: LES SYMPTÔMES LES PLUS FRÉQUENTS REMARQUÉ AU COURS DE NOTRE L'ÉTUDE.....</b>	<b>64</b>
<b>TABLEAU 6: LES COMORBIDITÉS LES PLUS FRÉQUENTS REMARQUÉ AU COURS DE NOTRE ÉTUDE.....</b>	<b>65</b>
<b>TABLEAU 7: NOMBRE D'ÉCHANTILLONS ACCEPTÉ POUR LE SÉQUENÇAGE .....</b>	<b>69</b>

## La liste des figures

<b>FIGURE 1.</b> TAXONOMIE DES VIRUS.....	5
<b>FIGURE 2 :</b> STRUCTURE DU VIRUS SRAS-COV-2.....	6
<b>FIGURE 3 :</b> ORGANISATION DU GÉNOME DU SRAS-COV-2.....	9
<b>FIGURE 4 :</b> ORGANISATION DU GÉNOME.....	10
<b>FIGURE 5 :</b> ARBRE PHYLOGÉNÉTIQUE DES CORONAVIRUS .....	11
<b>FIGURE 6 :</b> LA RÉPARTITION DES VARIANTS DANS LE MONDE.....	17
<b>FIGURE 7:</b> CYCLE DE RÉPLICATION.....	18
<b>FIGURE 8 :</b> RÉPARTITION EN FONCTION DU NOMBRE DE CAS DANS LE MONDE .....	19
<b>FIGURE 9 :</b> LE NOMBRE DE CAS EN FONCTION DES RÉGIONS DU MALI .....	21
<b>FIGURE 10 :</b> LES DIFFÉRENTES MODES DE TRANSMISSION. ....	22
<b>FIGURE 11 :</b> LA TOMODENSITOMÉTRIE THORACIQUE D'UNE PNEUMONIE DU SRAS-COV-2 .....	24
<b>FIGURE 12 :</b> CINÉTIQUE DES MARQUEURS DIAGNOSTIQUES EN FONCTION DU STADE DE L'INFECTION.....	25
<b>FIGURE 13 :</b> COUPE SAGITTALE DES VOIES AÉRIENNES SUPÉRIEURES ILLUSTRANT LES MODALITÉS DE RÉALISATION D'UN PRÉLÈVEMENT RHINO-PHARYNGÉ AVEC UN ÉCOUVILLON.....	26
<b>FIGURE 14 :</b> PRÉSENTATION DU TRIPLE EMBALLAGE SELON CDC.....	28
<b>FIGURE 15 :</b> SCHÉMAS DES TECHNIQUES MOLÉCULAIRES .....	30
<b>FIGURE 16 :</b> ILLUSTRATION DE LA TECHNOLOGIE LAMP POUR AMPLIFIER L'ADN DOUBLE BRIN CIBLE.....	32
<b>FIGURE 17 :</b> LE NIVEAU APPROXIMATIF D'ANTICORPS IGM ET IGG GÉNÉRÉS CONTRE LE SRAS- COV-2 À DIFFÉRENTES SEMAINES APRÈS L'INFECTION.....	36
<b>FIGURE 18 :</b> ILLUSTRATION SCHÉMATIQUE DES TESTS SÉROLOGIQUES POUR LE DIAGNOSTIC COVID-19.....	37
<b>FIGURE 19 :</b> TECHNIQUE DE MAXAM-GILBERT.....	39
<b>FIGURE 20 :</b> DANS QUATRE TUBES DIFFÉRENTS .....	40
<b>FIGURE 21:</b> COMPARAISON DES MÉTHODES DE SÉQUENÇAGE SANGER, DE NOUVELLE GÉNÉRATION (NGS, NEXT-GENERATION SEQUENCING) ET DE TROISIÈME GÉNÉRATION (TGS, THIRD-GENERATION SEQUENCING) .....	42
<b>FIGURE 22 :</b> COMPARAISON DES PERFORMANCES DES LECTURES COURTES NGS ET DES LECTURES LONGUES TGS .....	43
<b>FIGURE 23 :</b> LA TECHNOLOGIE NANOPORE .....	44
<b>FIGURE 24:</b> LA RÉPARTITION DES PATIENTS EN FONCTION DU SEXE.....	60
<b>FIGURE 25:</b> LA RÉPARTITION DES PATIENTS EN FONCTION DES TRANCHES D'ÂGE (ANNÉE)...	61
<b>FIGURE 26:</b> LA RÉPARTITION DES PATIENTS EN FONCTION DE NOMBRE DE PERSONNES VIVANTS AVEC LE PATIENT .....	62
<b>FIGURE 27:</b> DÉLAI ENTRE ADMISSION ET L'APPARITION DES PREMIERS SYMPTÔMES.....	63

<b>FIGURE 28:</b> LA RÉPARTITION DES PATIENTS EN FONCTION DES SIGNES GÉNÉRAUX.....	66
<b>FIGURE 29 :</b> LE TRAITEMENT TRADITIONNEL UTILISÉ PAR LES PATIENTS À LA MAISON ET LES DIFFÉRENTS PROTOCOLES UTILISÉS AUX CENTRES DE PRISE EN CHARGE. ....	67
<b>FIGURE 30:</b> ISSU DES PATIENTS UN MOIS APRÈS LEUR INCLUSION. ....	68
<b>FIGURE 31 :</b> LES VARIANTS CIRCULANT EN GUINÉE (LA CLASSIFICATION NEXTSTRAIN) .....	70
<b>FIGURE 32:</b> LES VARIANTS CIRCULANT AU MALI (CLASSIFICATION NEXTSTRAIN).....	71
<b>FIGURE 33 :</b> ARBRE PHYLOGÉNIQUE PERMETTANT DE LIER LES DIFFÉRENTES VARIANTS .....	13

## La liste des abréviations

<b>ACE-2</b>	Angiotensin-Converting Enzyme 2 (Enzyme de conversion de l'angiotensine 2)
<b>ARN</b>	Acide Ribonucléique
<b>Cov</b>	Coronavirus
<b>FAPH</b>	Faculté de Pharmacie
<b>FMOS</b>	Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie
<b>MERS</b>	Syndrome Respiratoire du Moyen Orient
<b>ORF</b>	Open Reading Frame (cadre de lecture ouverte)
<b>RBD</b>	Domaine de liaison au récepteur
<b>RT-PCR</b>	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaîne après transcription inverse)
<b>SRAS</b>	Syndrome Respiratoire Aigu Sévère
<b>TMPRSS2</b>	Protéase Serine Transmembranaire de type 2
<b>WHO/OMS</b>	World Health Organization (Organisation Mondiale de la Santé)
<b>OOAS</b>	Organisation Ouest Africaine de la Santé
<b>FDA</b>	Agence fédérale Américaine des produits alimentaire et médicamenteux
<b>ER</b>	Réticulum Endoplasmique
<b>RDM</b>	Domaine de fixation au récepteur
<b>NTD</b>	N-Domaine Terminal
<b>CTD</b>	C-domaine Terminal
<b>LKR</b>	Région de Liaison
<b>CDC</b>	Centre pour le contrôle des maladies (center for disease control)
<b>RdRP</b>	ARN polymérase ARN dépendante
<b>CHU</b>	Centre Hospitalier Universitaire
<b>VIH</b>	Virus de l'immunodéficience humaine
<b>VOC</b>	Variants préoccupantes
<b>VOI</b>	Variants d'intérêt
<b>ORF</b>	Cadres de lecture ouverts
<b>INF</b>	Interféron
<b>NSP</b>	Protéine non structural
<b>OOAS</b>	L'organisation Ouest Africaine
<b>RTC</b>	Complexe réplication/transcription
<b>NIH</b>	Institut national de santé
<b>RSI</b>	Règlement sanitaire international
<b>TDM</b>	Tomodensitométrie
<b>IGM</b>	Immunoglobuline M
<b>IGG</b>	Immunoglobuline G
<b>UTM</b>	Milieu de transport Universal
<b>VTM</b>	Milieu de transport viral
<b>UCRU</b>	Centre universitaire de recherche clinique
<b>SIDA</b>	Syndrome de l'immunodéficience acquise
<b>CHU</b>	Centre Hospitalier Universitaire

## 1. INTRODUCTION

Le virus du syndrome respiratoire aigu sévère du coronavirus 2 (SRAS-CoV-2) est un nouveau virus du genre beta-coronavirus zoonotique ( sous famille des Nidovirinae de la famille des coronaviridae de l'ordre des nidovirales) (1). Ce virus est composé d'un génome de polarité positive et à ARN simple brin, qui est composé environ 30 kb avec un diamètre d'environ 65-125 nm (2 3).

Depuis décembre 2019, le virus a été détecté chez les patients atteints de pneumonie à Wuhan, la plus grande région métropolitaine de la province chinoise du Hubei ; par le bureau de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en Chine (2). La maladie s'est rapidement propagée dans d'autres provinces chinoises, dans les pays voisins et dans le monde entier. Comme pour la plupart des pathogènes respiratoires, la transmission se fait principalement par le biais des gouttelettes provenant de la toux et des éternuements. Le 30 janvier 2020, l'OMS l'a déclarée urgence de santé publique de portée internationale et, le 28 février 2020, elle a été élevée au plus haut niveau de risque mondial. Le 11 mars 2020, déclarée en une pandémie mondiale (2-4).

Selon le dernier rapport de l'OMS publié le 07 avril 2022, environ 490 millions de cas de COVID-19 ont été signalé dans le **monde** avec 6,1 millions de décès.

En **Afrique**, malgré les défaillances du système sanitaire et des ressources limitées, le continent africain reste le moins touché par le SRAS-CoV-2, qui a enregistré son premier cas le 25 février 2020 en Égypte puis s'est propagé dans les 54 pays. Environ 11 millions de cas confirmés de COVID-19 en Afrique avec 252 059 décès liés à cette pandémie selon les rapports de l'OMS en date du 07 avril 2022(5).

Au **Mali**, les premiers cas de COVID-19 ont été enregistrés à Bamako le 25 mars 2020 chez des patients venant de l'étranger, selon le rapport du ministère de la santé et du développement social du Mali. Publié le 07 avril 2022, le nombre de cas confirmés de COVID-19 était 30 566 cas avec 729 décès.

En **Guinée**, selon le ministère de la santé et de l'hygiène publique, le premier cas de COVID-19 a été détecté le 12 mars 2020 à Conakry. Dans leur rapport, publié le 07 avril 2022, la Guinée avait enregistré 36 459 cas et 440 décès.

Après la détection de la souche sauvage 19A (D614G) en chine fin décembre 2019, tout comme les autres virus SRAS-CoV-2 a subi des mutations et des délétions très importantes au sein de son génome, lui permettant une transmission très facile, de s'échapper au contrôle du

système immunitaire et faire des formes très graves de la maladie. Ces mutations ont entraîné divers variants tel que : le **variant Alpha** (identifié en fin décembre 2020) et le **variant Beta** (identifié en décembre 2020 en Afrique du sud) (6). Ces variants identifiés peuvent se trouver au Mali et en Guinée avec les mêmes caractéristiques cliniques et virologiques, d'où un fort besoin de surveillance d'épidémiologie moléculaire pour identifier et retracer les souches du SRAS-CoV-2 dans la sous-région.

Actuellement, au Mali et en Guinée le diagnostic spécifique du SRAS-CoV-2 repose sur la technique de biologie moléculaire de réaction de polymérisation en chaîne (PCR) en temps réel. Cette technique est réalisée sur un écouvillonnage nasopharyngé et/ou oropharyngé (7).

Cependant, en l'absence de traitement approuvé par l'Agence Fédérale Américaine des Produits Alimentaires et Médicamenteux (FDA) efficace contre le COVID-19, au regard de la pratique de plusieurs pays de la sous-région et des recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) sur l'utilisation de l'hydroxychloroquine (HCQ) ou de la chloroquine dans la prise en charge de COVID-19 dans les centres hospitaliers, le Mali et la Guinée ont adopté l'introduction de ces deux molécules dans le protocole de traitement de COVID-19 plus l'azithromycine et les traitements symptomatiques en fonction de la sévérité de la maladie.

La pandémie de SRAS-CoV-2 représente le sujet sur lequel se concentrent les recherches ces derniers jours, et bien que des progrès notables aient été enregistrés dans l'acquisition de connaissances sur cette maladie mortelle, il reste encore de nombreuses zones d'ombre. Les résultats de cette étude permettront de mieux suivre l'évolution du SRAS-CoV-2 dans le temps ; les symptômes et les comorbidités de la maladie à COVID-19. En générale cette étude se basera sur les données cliniques et virologiques de SRAS-CoV-2 collectées au Mali et en Guinée durant la pandémie de COVID-19.

### **Hypothèse :**

Malgré le nombre peu élevé de cas officiels confirmés de COVID-19 et de décès en Afrique subsaharienne, les variants du virus observés dans d'autres pays sont présents en Afrique subsaharienne et peuvent avoir un impact sur la gravité de la maladie et des thérapies en cours de développement.

## **2. OBJECIFS**

### **2.1. Objectif général**

Etudier les caractéristiques cliniques et virologiques des patients infectés du SRAS-CoV-2 au Mali et en Guinée.

### **2.2. Objectifs spécifiques**

- Décrire les caractéristiques sociodémographiques chez les patients infectés par le SRAS-CoV-2 au niveau des centres de prise en charge des cas confirmés de COVID-19 à Bamako, Mali et à Conakry, Guinée ;
- Décrire l'évolution clinique de la maladie du SRAS-CoV-2 dans ces deux pays de l'Afrique de l'Ouest ;
- Décrire l'évolution de la diversité génétique du SRAS-CoV-2 au Mali et en Guinée.

### 3. GENERALITES

#### 3.1. Historique de la famille et taxonomie du SRAS-CoV-2

Les coronavirus ont été identifiés comme pathogènes humains dans les années 1960. Ce sont des virus enveloppés à ARN brin positif de l'ordre des *nidovirales* (Figure1). Avec leur surface caractéristique, les virions ont un aspect en forme de couronne au microscope électronique, c'est pourquoi les virus sont nommés d'après le mot latin « corona », qui signifie couronne ou halo (8,9).

La plupart des coronavirus infectent les animaux (c'est-à-dire les chauves-souris, les oiseaux et les mammifères) qui agissent comme un hôte réservoir intermédiaire. Parfois, ils changent d'hôte et infectent les hommes (8).

Il existe actuellement sept coronavirus connus pour infecter les humains (Figure1). Quatre d'entre eux provoquent une maladie légère à modérée. Plus précisément, HCoV-OC43, HCoV-HKU1 et HCoV-229 provoquent des rhumes et des infections graves des voies respiratoires inférieures chez les personnes les plus jeunes et les plus âgées, tandis que HCoV-NL63 est une cause importante de (pseudo) croup et de bronchiolite dans enfants. Les trois autres causent des maladies plus graves, voire mortelles et sont apparus plus récemment (au cours des 20 dernières années) le SRAS-CoV responsable du syndrome respiratoire Aigu sévère (SRAS) apparu en 2002, le MERS-CoV le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS) qui a émergé en 2012 et le SRAS-CoV-2, responsable de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19), qui a été identifié fin 2019 en chine (8,10).

Chez l'homme, la maladie affecte principalement les voies respiratoires, avec des symptômes allant de ceux d'un simple rhume à une infection très grave des voies respiratoires inférieures (8).

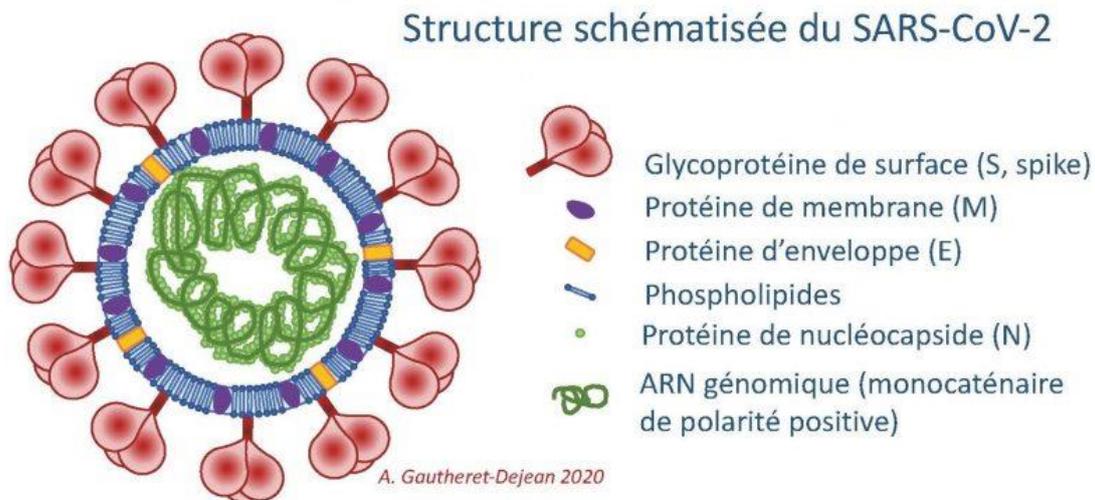
Order: <i>Nidovirales</i>					
Family: <i>Coronaviridae</i>					
Sub-family	Genus	Sub-genus	Species	Sub-species	
<i>Orthocoronaviridae</i>	<i>Alphacoronavirus</i>	<i>Duvinacoronavirus</i>	<i>HCoV-229</i>		
		<i>Setracovirus</i>	<i>HCoV-NL63</i>		
	<i>Betacoronavirus</i>	<i>Embecovirus</i>		<i>HCoV-HKU1</i>	
				<i>Betacoronavirus 1</i>	<i>HCoV-OC43</i>
		<i>Merbecovirus</i>	<i>MERS-CoV</i>		
		<i>Sarbecovirus</i>	<i>SARS-CoV</i>		
			<i>SARS-CoV2</i>		
	<i>Deltacoronavirus</i>				
	<i>Gammacoronavirus</i>				

**Figure 1.** Taxonomie des Virus

Le coronavirus humain est représenté en jaune et le SRAS-CoV-2 responsable de la COVID-19 en rouge. Source : basé sur le Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV) (8).

### 3.2. Structure génomique et propriétés du SARS-CoV-2 :

En tant que membre de la famille des coronavirus, la taille du génome du SARS-CoV-2 qui a été séquencé en 2020 est d'environ 29,9 kb. Le SRAS-CoV-2 contient quatre protéines structurelles : la protéine de nucléocapside (N), la protéine de membrane (M), la protéine de pointe (S) et la protéine d'enveloppe (E) et seize protéines non structurelles (nsp1-16)



**Figure 2 :** structure du virus SRAS-CoV-2 (11).

Les coronavirus sont des virus à ARN monocaténaire enveloppés. Le SARS-CoV-2 a un génome d'ARN simple brin de sens positif d'environ 30 kb qui partage une identité de séquence d'environ 80% avec celui du SRAS-CoV. L'ARN génomique (ARNg) du SARS-CoV-2 comprend des cadres de lecture ouverts (ORF). Deux ORF principaux ; ORF1a et ORF1b, chevauchant un ribosomal frame-shift, englobent les deux tiers du génome et sont traduits en polyprotéines pp1a et pp1ab, respectivement. Ces poly protéines sont traitées par des protéases virales (protéase de type papaine et protéase principale) pour produire des protéines non structurales (NSP), NSP1 à NSP16. Parmi les fournisseurs de service réseau et quelques facteurs de l'hôte forment un complexe à l'intérieur d'une réplique transcription (RTC) des vésicules à double membrane (DMV). Les RTC sont la plaque tournante centrale de la réplique et de la transcription du génome viral. Le tiers restant du génome a des ORF qui se chevauchent, codant pour quatre protéines structurales majeures : le pointe (S), la membrane (M), l'enveloppe (E) et la nucléocapside (N), et certaines protéines accessoires, notamment ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9 et ORF10 (12).

### 3.2.1. Les protéines structurales :

#### ➤ Glycoprotéine de pointe (S) :

La protéine S du coronavirus est une grande protéine transmembranaire virale multifonctionnelle.

La taille de cette abondante protéine S varie de 1 160 acides aminés à 1 400 acides aminés elle forme un trimère à la surface du virion, donnant au virion une apparence de couronne. Fonctionnellement, elle est nécessaire pour l'entrée des particules de virions infectieuses dans la cellule par interaction avec divers récepteurs cellulaires de l'hôte. De plus, il agit comme un facteur critique pour le tropisme tissulaire et la détermination de gamme d'hôtes. Notamment, la protéine S est l'une des protéines immunodominantes vitales des Coronavirus capable d'induire des réponses immunitaires de l'hôte. Divisés en deux sous-unités, S1 et S2. Le premier, S1 aide à la liaison au récepteur hôte, tandis que le second, S2 représente la fusion. Le premier (S1) est divisé en deux sous-domaines, à savoir le domaine N-terminal (NTD) et le domaine C-terminal (CTD). Ces deux sous-domaines agissent comme des domaines de liaison aux récepteurs et ils interagissent efficacement avec divers récepteurs de l'hôte. Le CTD S1 contient le motif de liaison au récepteur (RBM). Dans chaque protéine de pointe de coronavirus, le trimérique S1 se place au sommet de la tige trimérique S2 (13).

➤ **Protéine de membrane (M)**

La protéine M est la protéine virale la plus abondante présente dans la particule de virion, donnant une forme définie à l'enveloppe virale. Elle se lie à la nucléocapside et agit comme un organisateur de l'assemblée du coronavirus. Les protéines M du coronavirus sont très diverses en acides aminés mais conservent une similarité structurelle globale au sein de différents genres. Cette protéine a trois domaines transmembranaires, flanqués d'une courte extrémité aminée à l'extérieur du virion et une longue extrémité carboxyde à l'intérieur du virion. Dans l'ensemble, l'échafaudage viral est maintenu par l'interaction M-M. Il est à noter que la protéine M du SRAS-CoV-2 n'a pas de substitution d'acides aminés par rapport à celle du SRAS-CoV (13).

➤ **Protéine de l'enveloppe (E)**

La protéine E du coronavirus est la plus énigmatique et la plus petite des principales protéines. Elle joue un rôle multifonctionnel dans la pathogenèse, l'assemblage et la libération des virus. C'est un petit polypeptide membranaire intégral qui agit comme une viroporine (ion canal). L'inactivation ou l'absence de cette protéine est liée à la virulence altérée des coronavirus en raison de changements de morphologie et de tropisme. La protéine E est constituée de trois domaines, à savoir un court amino-terminal hydrophile, un grand domaine transmembranaire hydrophobe et un domaine C-terminal efficace. La protéine SARS-CoV-2 E révèle une constitution d'acides aminés similaire sans aucune substitution (13).

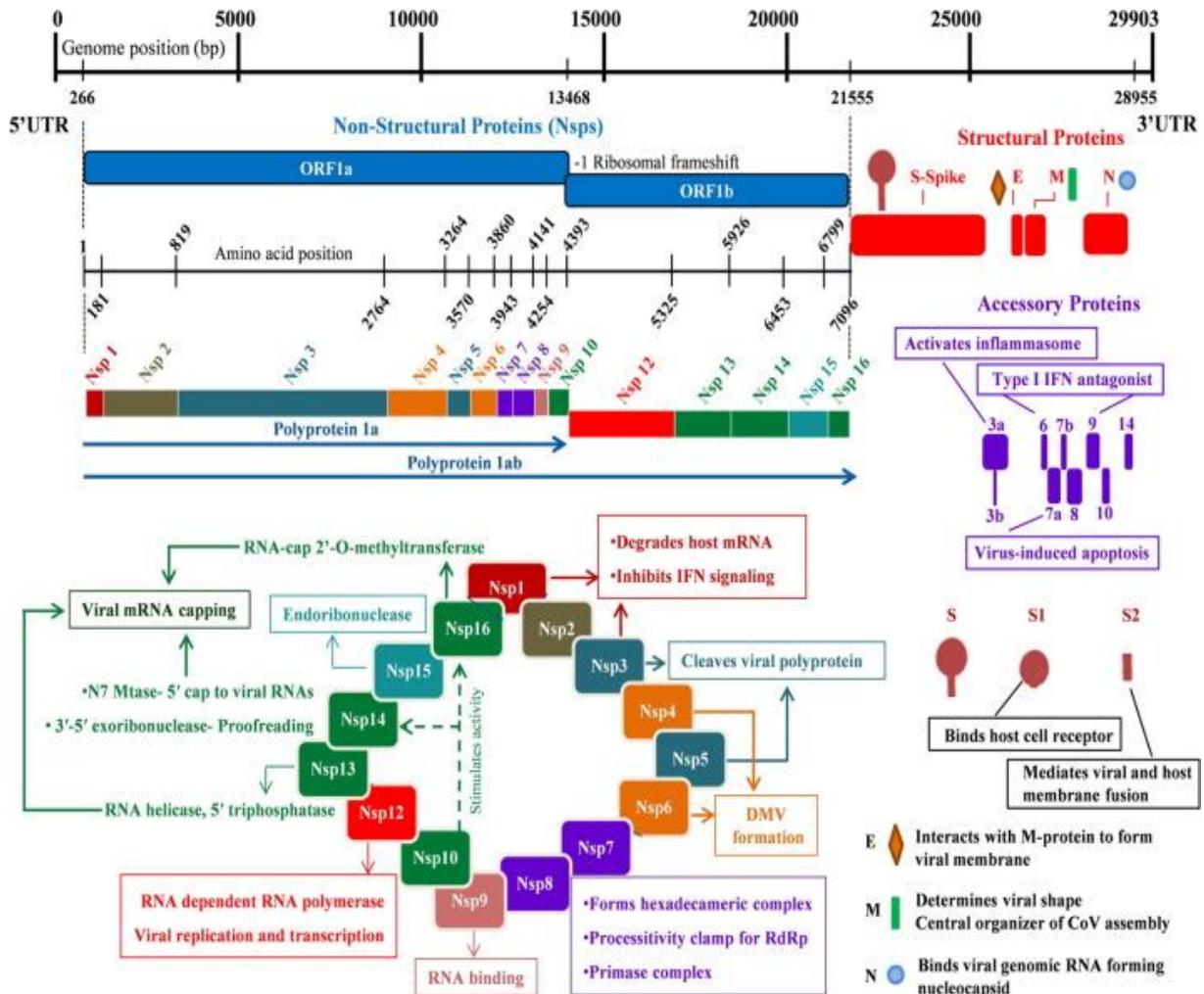
### ➤ **Protéine de nucléocapside (N)**

La protéine N du coronavirus est polyvalente. Parmi plusieurs fonctions, elle joue un rôle dans la formation de complexe avec le génome viral. Elle facilite l'interaction des protéines M nécessaire lors de l'assemblage du virion et améliore l'efficacité de la transcription du virus. La protéine N contient trois domaines hautement conservés et distincts, à savoir : une MTN, un domaine de liaison à l'ARN ou une région de liaison (LKR) et un CTD. Le NTD se lie avec le 3' du génome viral, peut-être via des interactions électrostatiques et elle est très divergente à la fois en longueur et en séquence. Le LKR chargé est riche en sérine et en arginine et est également connu sous le nom de domaine SR (sérine et arginine). Le LKR est capable d'interaction avec ARN *in vitro* et est responsable de la signalisation cellulaire. La région de liaison permet également de rendre la réponse antivirale de l'hôte à agir comme un antagoniste pour l'interféron (IFN) et ARN interférence (13).

### **3.2.2. Les protéines non structurales :**

NSP1 intervient dans le traitement et la réplication de l'ARN. NSP2 module la voie de signalisation de survie de la cellule hôte. On pense que NSP3 sépare la protéine traduite. NSP4 contient le domaine transmembranaire 2 (TM2) et modifie les membranes du RE (reticulum endoplasmique). NSP5 participe au processus de polyprotéine lors de la réplication. NSP6 est un domaine transmembranaire présumé. La présence de NSP7 et NSP8 ont augmenté de manière significative la combinaison de NSP12 et d'ARN matrice-amorce. NSP9 fonctionne comme une protéine de liaison à l'ARNsb. NSP10 est essentiel pour la méthylation de la coiffe des ARNm viraux. NSP12 contient l'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RdRp), qui est une composition critique de la réplication/transcription du coronavirus. NSP13 se lie à l'ATP et le domaine de liaison au zinc de NSP13 participe au processus de réplication et de transcription. NSP14 est un domaine exoribonucléase de relecture. NSP15 a une activité endoribonucléase Mn (2+) -dépendante. NSP16 est une 2'-O-ribose méthyltransférase. Une étude montre qu'il existe des effets médiés par les NSP sur l'épissage, la traduction et le trafic de protéines pour inhiber les défenses de l'hôte. Lors de l'infection par le SRAS-CoV-2, NSP16 se lie aux domaines de reconnaissance de l'ARNm des snARN U1 et U2 pour supprimer l'épissage de l'ARNm. NSP1 se lie à l'ARN ribosomique 18S dans le canal d'entrée de l'ARNm du ribosome pour interférer avec la traduction de l'ARNm. NSP8 et NSP9 se lient à l'ARN 7SL qui se localise au niveau de la particule de reconnaissance du signal pour perturber le trafic des protéines vers la membrane

cellulaire. Voici quelques protéines du SRAS-CoV-2 qui pourraient potentiellement servir de cibles de médicaments antiviraux en fonction de leurs structures (4,14).



**Figure 3** : Organisation du génome du SRAS-CoV-2 (12).

Organisation du génome du SARS-CoV-2. Le génome viral code 16 protéines non structurales (NSPs) nécessaires à la réplication/ transcription ainsi que les protéines structurales nécessaires à l'assemblage de nouveaux virions. Les protéines sont marquées sous le génome avec leurs régions codantes respectives. Une brève description des fonctions de différentes protéines est également présentée (12).

### 3.2.3. Propriétés physicochimiques du SRAS-CoV-2 :

Densité de 1.16 à 1.23 en saccharose et de 1.23 à 1.24 en chlorure de césium

Coefficient de sédimentation de coronavirus humain : 380S

Sensibilité au pH : stabilité maximale entre pH 6 et 7 les coronavirus entériques sont stables à pH 2.

Sensibilité à la température : inactivation rapide à 56°C, perte d'infectiosité après séjour de 24 h à 37°C ou de 30 jours à 4°C conservation à -80°C.

Sensibilité aux solvants organiques : solubilisés par le chloroforme et l'éther

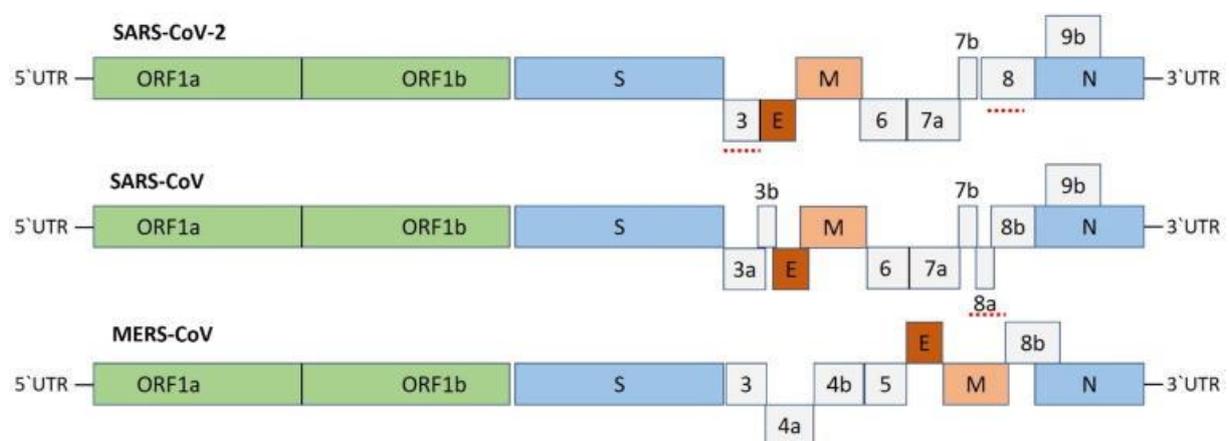
Sensibilité aux antiseptiques et aux détergents : inactivés par l'éthanol 70% et les détergents courants.

Radiations : inactivés par les rayons UV (15)

### 3.2.4. Diversité génétique et variabilité

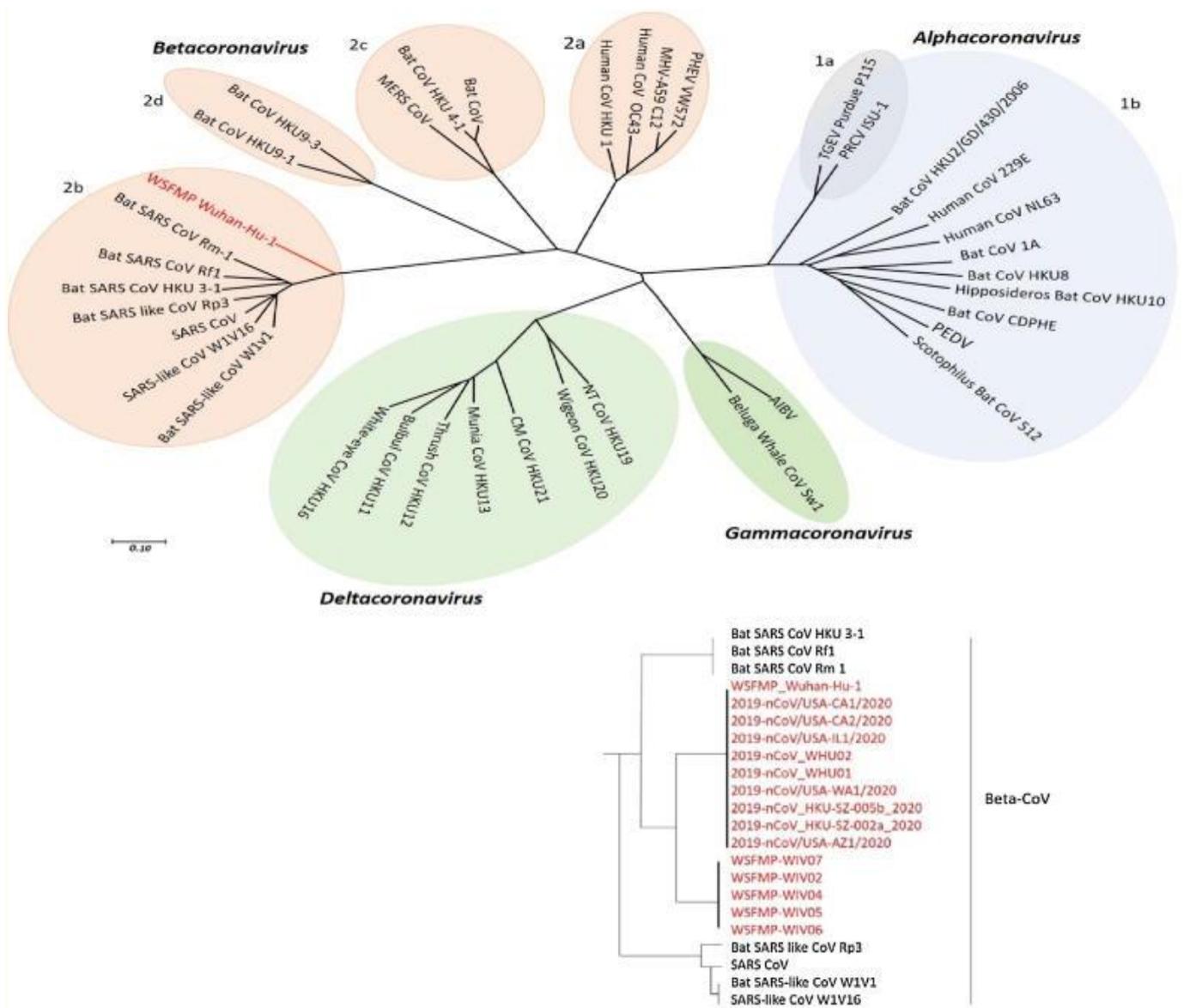
#### 3.2.4.1. La diversité génétique :

Le génome du SRAS-CoV-2 a été rapporté à plus de 80% identique au précédent coronavirus humain. Selon l'arbre évolutif, le SRAS-CoV-2 est proche du groupe des SRAS-coronavirus. Des études récentes ont indiqué des variations notables du SRAS-CoV et du SRAS-CoV-2, telles que l'absence de protéine 8a et la fluctuation du nombre d'acide aminés des protéines 8b et 3c du SRAS-CoV-2. Il est également rapporté que la glycoprotéine Spike du coronavirus de Wuhan est modifiée par recombinaison homologue. La glycoprotéine de pointe du SARS-CoV-2 est le mélange de SRAS-CoV de chauve-souris et d'un beta-CoV inconnu. Dans une étude plus récente, il a été confirmé que le SRAS-Cov-2 utilise également le même récepteur cellulaire ACE2 (enzyme de conversion de l'angiotensine 2) et le même mécanisme pour l'entrée dans la cellule hôte qui était auparavant utilisé par le SRAS-CoV. La seule mutation N501T dans la protéine Spike de SRAS-CoV-2 pourrait considérablement amélioré son affinité de liaison pour ACE2 (16).



**Figure 4** : Organisation du génome (16)

Organisation du génome des *betacoronavirus* ; le *betacoronavirus* pour le génome humain (SRAS-COV-2, SRAS-CoV et MERS-CoV) comprend la région 5'-non traduite (5'-UTR), cadre de lecture ouvert (ORF) 1a/b (boîte vert) codant pour protéines non structurales (NSP) pour la réplication, les protéines structurales dont les protéines de pointe (boîte bleu), enveloppé (boîte marron) membrane (boîte rose) et nucléocapside (boîte cyan), protéines accessoires (boîtes gris clair) telles que ORF 3, 6, 7a, 8 et 9b dans le génome du SRAS-CoV-2 et le SRAS-CoV. La longueur des NPS et des ORF n'est pas dessinée à l'échelle. (Pour l'interprétation des références à la couleur dans cette légende de la figure, le lecteur est renvoyé à la version web de cet article.)



**Figure 5** : Arbre phylogénétique des coronavirus (16)

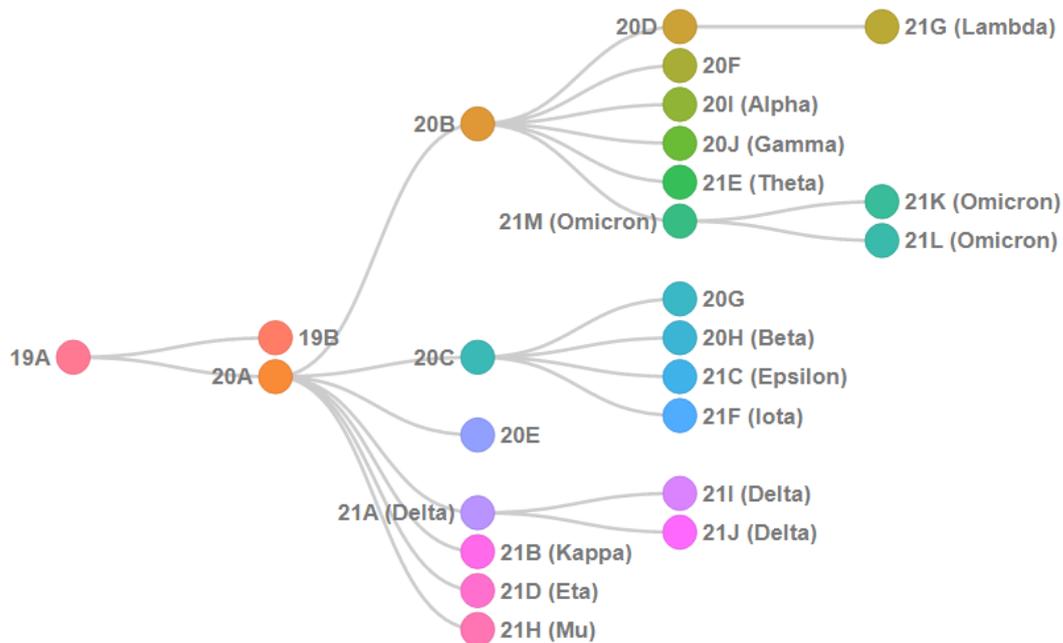
L'arbre phylogénétique montrant la relation de Wuhan-Hu-1 (noté en rouge) avec le coronavirus sélectionné est basé sur les séquences nucléotidiques du génome complet. Les virus sont regroupés en quatre genres (prototype illustré) : *Alpha coronavirus* (bleu ciel), *Beta coronavirus* (rose), *Gamma coronavirus* (vert), et *Delta coronavirus* (bleu clair). Les grappes de sous-groupes sont étiquetées comme 1a et 1b pour l'*Alphacoronavirus* et 2a, 2b, 2c et 2d pour le *Beta coronavirus*. Cet arbre est basé sur les arbres publiés de *coronavirinae*, et reconstruit avec des séquences de la région complète codant pour l'ARN polymérase dépendante de l'ARN des nouveaux coronavirus représentatifs (méthode du maximum de vraisemblance utilisant le logiciel MEGA 7.2). Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) ; virus de la diarrhée entérique porcine (PEDV) ; pneumonie du marché des fruits de mer de Wuhan (Wuhan-Hu-1). Bat CoV RaTG13 a montré une forte identité de séquence avec SRAS-CoV-2.

### 3.2.4.2. La classification selon OMS, Nextstrain et Pangoo :

**Tableau 1 : La classification des variants de SRAS-CoV-2 selon OMS, Nextstrain et Pangoo (17).**

Dénomination de OMS	Lignée PANGO	Lignée Nextstrain	Premier échantillon répertoriés	Date de désignation
Delta	B.1.617.2	21A,21I, 21J	Inde, octobre 2020	VOI : 4 avril 2021 VOC : 11 mai 2021
Omicron	B.1.1.529	21K, 21L, 21M	Plusieurs pays novembre 2021	VUM : 24 novembre 2021 VOC : 26 novembre 2021
Alpha	B.1.1.7	20I (V1)	Royaume-Uni, septembre 2020	Variant préoccupant : 18 décembre 2020 Variant anciennement préoccupant : 9 mars 2022
Bêta	B.1.351	20H (V2)	Afrique du Sud, mai 2020	Variant préoccupant : 18 décembre 2020 Variant anciennement préoccupant : 9 mars 2022
Gamma	P.1	20J (V3)	Brésil, novembre 2020	Variant préoccupant : 11 janvier 2021 Variant anciennement
Epsilon	B.1.427 B.1.429	21C	États-Unis d'Amérique, mars 2020	Variant à suivre : 5 mars 2021 Variant anciennement à suivre : 6 juillet 2021
Zêta	P.2	20B/S.484K	Brésil, avril 2020	Variant à suivre : 17 mars 2021 Variant anciennement à suivre :

				6 juillet 2021
Éta	B.1.525	21D	Plusieurs pays, décembre 2020	Variant à suivre : 17 mars 2021 Variant anciennement à suivre : 20 septembre 2021
Thêta	P.3	21E	Philippines, janvier 2021	Variant à suivre : 24 mars 2021 Variant anciennement à suivre : 6 juillet 2021
Iota	B.1.526	21F	États-Unis d'Amérique, novembre 2020	Variant à suivre : 24 mars 2021 Variant anciennement à suivre : 20 septembre 2021
Kappa	B.1.617.1	21B	Inde, octobre 2020	Variant à suivre : 4 avril 2021 Variant anciennement à suivre : 20 septembre 2021
Lambda	C.37	21G	Pérou, décembre 2020	Variant à suivre : 14 juin 2021 Variant anciennement à suivre : 9 mars 2022
Mu	B.1.621	21H	Colombie, janvier 2021	Variant à suivre : 30 août 2021 Variant anciennement à suivre : 9 mars 2021



**Figure 6** : arbre phylogénétique permettant de lier les différents variants du SRAS-CoV-2 (18)

### 3.2.4.3. Les variants de la COVID-19 :

Centre européen de prévention et contrôle des maladies (ECDC) évalue régulièrement de nouvelles preuves sur les variantes détectées grâce aux renseignements épidémiologiques, au dépistage des variantes génomiques fondé sur des règles ou à d'autres sources scientifiques. Si une décision est prise d'ajouter, de supprimer ou de modifier la catégorie pour une variante, les tableaux sont mis à jour pour refléter ce changement. Les tableaux sont régulièrement envoyés pour consultation au groupe de travail conjoint sur la caractérisation des virus de l'ECDC et du bureau régional de l'OMS pour l'Europe (19).

#### **Variants préoccupantes (VOC), variantes d'intérêt (VOI) et variantes sous surveillance**

##### ➤ **Variants préoccupantes (COV)**

Pour ces variantes, des preuves claires sont disponibles indiquant un impact significatif sur la transmissibilité, la gravité et/ou l'immunité qui est susceptible d'avoir un impact sur la situation épidémiologique. Les preuves génomiques, épidémiologiques et in vitro combinées de ces propriétés invoquent une confiance au moins modérée. De plus, tous les critères pour les variantes d'intérêt et sous surveillance décrits ci-dessous :

**Omicron (B.1.1.529)** a été détecté pour la première fois en Afrique, australe, le 24 novembre 2021 avec des mutations d'intérêt L452R, F486V, R493Q.

**Alpha (B.1.1.7)** détecté en décembre 2020 au Royaume-Uni avec des mutations d'intérêt N501Y, D614G, P681H.

**Beta (B.1.1.7+E484K, B.1.351)** détecté en septembre 2020 en Afrique du Sud avec des mutations d'intérêt K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V.

**Gamma (P.1)** détecté en décembre 2020 au Brésil avec des mutations d'intérêt K417T, E484K, N501Y.

**Delta (B.1.617.2)** détecté le 09 juin 2021 en Inde avec des mutations d'intérêt L452R, T478K, D614G, P681R.

##### ➤ **Les variantes d'intérêt (VOI)**

Pour ces variantes, des preuves sont disponibles sur les propriétés génomiques, des preuves épidémiologiques ou des preuves in vitro qui pourraient impliquer un impact significatif sur la transmissibilité, la gravité et/ou l'immunité, ayant de manière réaliste un impact sur la situation épidémiologique dans le monde. Cependant, les preuves sont encore préliminaires ou

sont associées à une incertitude majeure. De plus, tous les critères pour les variantes sous surveillance décrits ci-dessous :

**Eta (B.1.525)** détecté en décembre 2020 au Nigeria avec des mutations d'intérêt E484K, D614G, Q677H.

**Epsilon (B.1.427, B.1.429)** détecté en septembre 2020 aux Etats-Unis avec des mutations d'intérêt L452R, D614G.

**Thêta (P.3)** détecté en janvier 2021 au Philippines et au France avec des mutations d'intérêt E484K, N501Y, D614G, P681H.

**Kappa (B.1.616, B.1.617.1, B.1.620, B.1.621)** détecté en février 2021, décembre 2020, janvier 202, en Inde et en Colombie avec des mutations d'intérêt (L452R, E484Q, D614G, P681R), (S477N, E484K, D614G, P681H), (R346K, E484K, N501Y, D614G, P681H).

➤ **Variantes sous surveillance :**

Ces variantes supplémentaires du SRAS-CoV-2 ont été détectées en tant que signaux grâce à l'intelligence épidémique, au dépistage de variantes génomiques basé sur des règles ou à des preuves scientifiques préliminaires. Certains éléments indiquent qu'ils pourraient avoir des propriétés similaires à celles d'un COV, mais les preuves sont faibles ou n'ont pas encore été évaluées par l'ECDC. Les variantes répertoriées ici doivent être présentes dans au moins une épidémie, où il doit y avoir des preuves qu'il existe une transmission communautaire de la variante ailleurs dans le monde et décrits ci-dessous :

**Lambda (B.1.617.3, B.1.214.2, A23.1+E484K, A.27, A.28, C.37)** détecté en février 2021, en octobre 2020, en Inde, au Royaume-Uni, au Pérou respectivement avec des mutations d'intérêt (L452R, E484Q, D614G, P681R), (Q414K, N450K, ins214TDR, D614G), (V367F, E484K, Q613H), (L452R, N501Y, A653V, H655Y), (E484K, N501T, H655Y), (L452R, D614G), (L452Q, F490S, D614G).

**Iota (B.1.351+P384L, B.1.351+E516Q, B.1.1.7+S494P, C.36+L452R, À 1, B.1.526)** détecté en décembre 2020 et puis janvier 2021, en Afrique du Sud, au Royaume-Uni, en Egypte, en Russie, aux Etats-Unis avec des mutations d'intérêt (P384L, K417N, E484K, N501Y, D614G, A701V) (K417N, E484K, N501Y, E516Q, D614G, A701V) (L452R, N501Y, D614G, P681H), (L452R, D614G, Q677H) (E484K, D614G, N679K) (E484K, D614G, A701V).

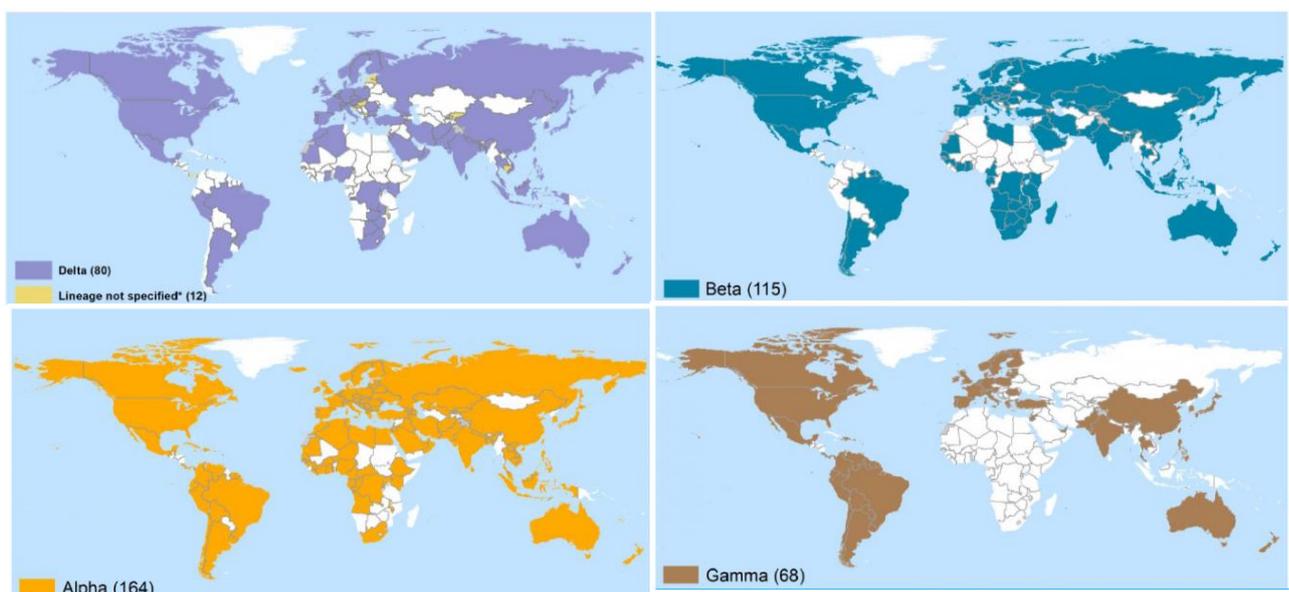
**Zeta (B.1.526.1, B.1.526.2, B.1.1.318, P.2)** détecté en Octobre 2020, en décembre 2020, en janvier 2021, les mutations d'intérêt L452R, D614G, S477N, D614G, E484K, D614G, P681H, E484K, D614G.

**Les autres :** (B.1.1.519, AV.1, P.1+P681H, B.1.671.2 + K417N) détecté en novembre 2020, en mars 2021, en février 2021, en juin 2021 au Mexique, au Royaume-Uni, en Italie, avec des mutations d'intérêt T478K, D614G, N439K, E484K, D614G, P681H, D614G, E484K, H655Y, K417T, N501Y, P681H, L452R, T478K (20).

### 3.2.5. Répartition géographique du SARS-CoV-2 :

La répartition géographique du SRAS-CoV-2 dans le monde en fonction des variants : selon OMS et CDC (21).

- Le variant Omicron : Le nouveau variant B.1.1.529 du virus qui donne le Covid 19, a été détecté pour la première fois en Afrique, australe, le 24 novembre 2021. Dès le 26 novembre, il était classé "préoccupant" par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), et a été baptisé "Omicron"
- Le variant Delta ou double mutant (variant indien), le 09 juin 2021.
- Le variant Alpha ou variant britannique apparu pour la première fois en septembre 2020 au Royaume-Uni.
- Le variant Beta ou variant Sud-africain, le 18 décembre 2020 plus de 50% de transmission.
- Le variant Gamma ou deux variants brésiliens originaires d'Amazonie, 13 janvier 2020.



**Figure 7** : la répartition des variants dans le monde (21).

### **3.3. Multiplication virale**

#### **➤ Attachement et entrée du virus dans la cellule**

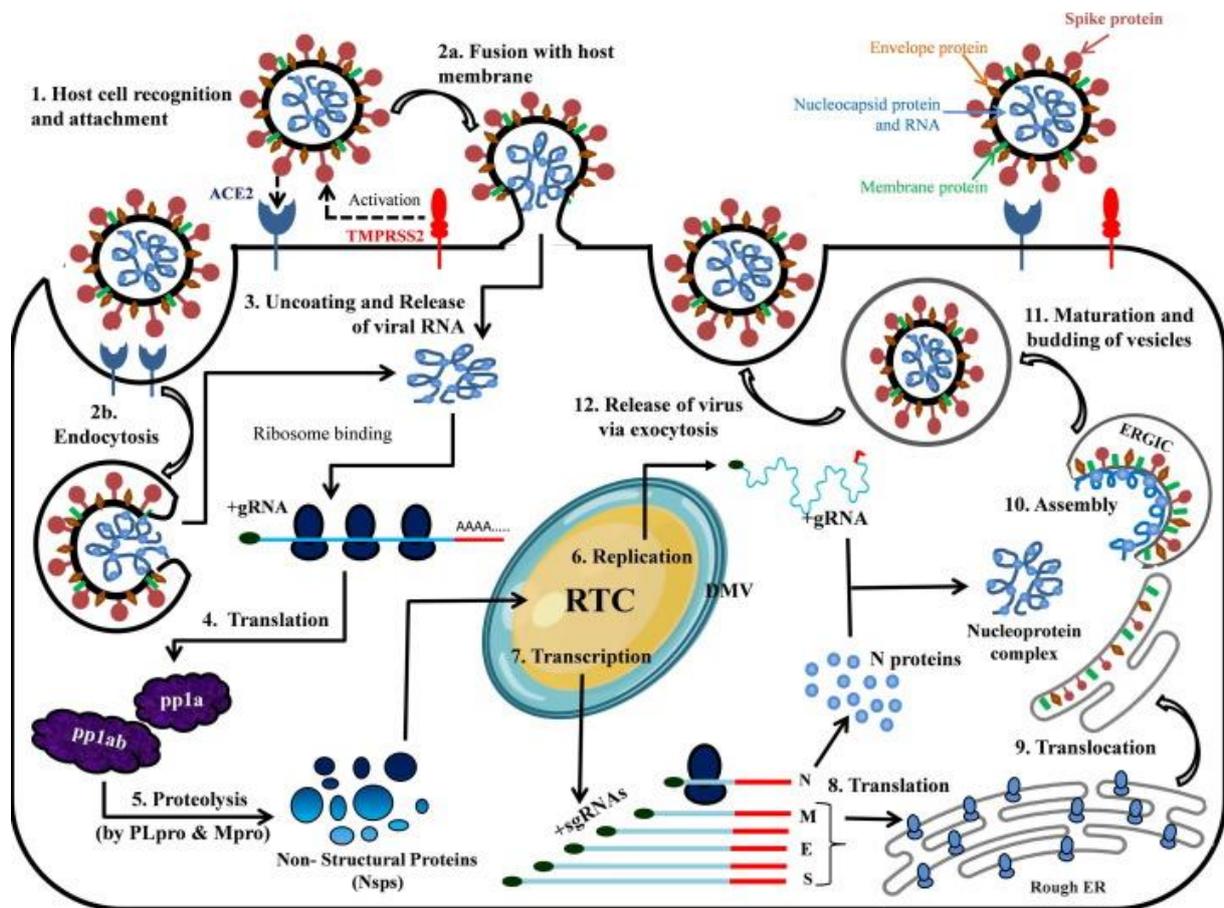
Au cours de l'infection virale, le SRAS-CoV-2 injecte son génome dans la cellule hôte via des endosomes ou une fusion directe de l'enveloppe virale avec la membrane de la cellule hôte, médiée par la liaison de la protéine de pointe S à l'enzyme de conversion de l'angiotensine humaine 2 (ACE2) à la surface de la cellule (étapes 1 à 2).

#### **➤ La réplication du virus dans la cellule**

Après l'entrée dans la cellule hôte, l'ARNg viral n'est pas enrobé et libéré dans le cytoplasme de la cellule hôte et traduit par les ribosomes de l'hôte (étapes 3 à 4). Les produits de traduction, les polyprotéines pp1a et pp1ab, sont clivées protéolytiquement en protéines non structurales Nsp1-16 par les facteurs, s'assemblent pour former un complexe RTC à l'intérieur de la cellule hôte infectée. Alors que Nsp2-11 est censée jouer un rôle de soutien, Nsp12-16 fournit la fonction enzymatique requise pour la réplication / transcription du génome virale à l'intérieur du RTC. Le brin ARN (+) est d'abord répliqué sur le brin ARN-, puis le brin négatif est utilisé soit pour la réplication vers le brin ARN (+) pour un nouvel assemblage de virions (étape 6), soit pour la transcription d'ARNm sous-génomiques (étapes 7). Ces ARNm sous-génomiques sont traduits en protéines structurales S, M, E, N et les protéines accessoires (Étape 8).

#### **➤ Maturation et bourgeonnement**

Les protéines S, M et E pénètrent dans le réticulum endoplasmique (ER) et la protéine N se fixe au brin d'ARN génomique (+) pour produire un complexe nucléoprotéique. Le complexe nucléoprotéique et les protéines structurales se déplacent vers le compartiment intermédiaire ER-Golgi (ERGIC) où les virions s'assemblent, murissent et bourgeonnent du Golgi sous forme de petites vésicules (étapes 9 à 11). Ces vésicules se déplacent vers la membrane de la cellule hôte où elles sont libérées dans la région extracellulaire par exocytose (étape 12). Les virions libérés infectent un nouvel ensemble de cellules conduisant à une progression de la maladie (12).



**Figure 8:** cycle de réplication

Le cycle d'infection du SRAS- CoV-2 à l'intérieur de la cellule hôte. La séquence des évènements, de la reconnaissance de la cellule hôte à la libération d'un nouveau virion, est représentée graphiquement par les étapes 1 à 12 (12).

### 3.4. COVID-19

#### 3.4.1. Epidémiologie

##### 3.4.1.1. Dans le Monde

Depuis le 31 décembre 2019 jusqu'au 07 avril 2022, environ 490 millions de cas de COVID-19 (conformément aux définitions de cas et aux stratégies de dépistage appliquées dans les pays touchés) ont été signalés, avec environ 6,1 millions de cas décès :

En **Asie** : 122 716 238 cas avec 1 276 763 cas de décès,

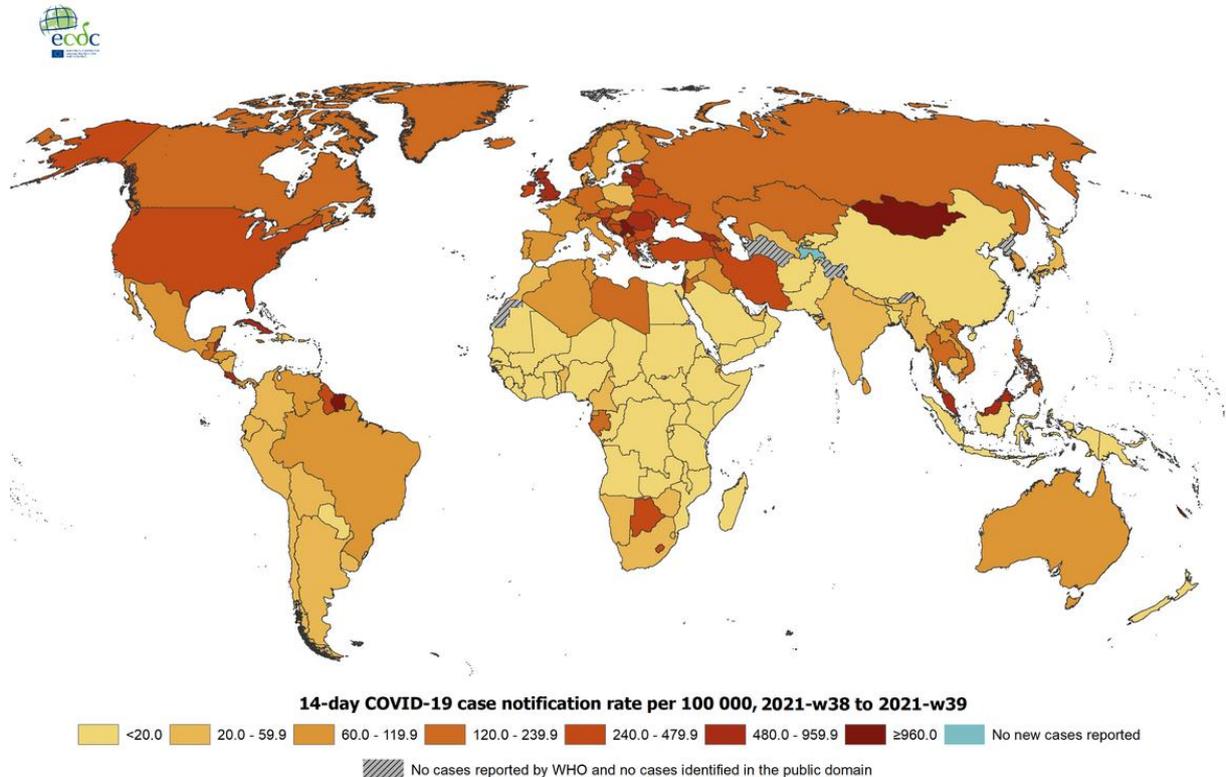
En **Amérique** : 151 344 968 cas avec 2697 893 cas de décès,

En **Europe** : 199 654 080 cas avec 1 922 138 cas de décès,

En **Océanie** : 5 530 405 cas avec 9732 cas de décès,

**Autre**: 705 cas ont été signalés par un moyen de transport international au Japon avec 6 de cas de décès.(22).

#### Taux de notification des cas COVID-19



Administrative boundaries: © EuroGeographics © UN-FAO © Turkstat. The boundaries and names shown on this map do not imply official endorsement or acceptance by the European Union. Date of production: 06/10/2021

**Figure 9** : répartition en fonction du nombre de cas dans le monde

### **3.4.1.2. En Afrique**

Depuis le 25 février 2020 l'Afrique a enregistré son premier cas en Égypte puis la maladie s'est propagée dans les 54 pays. A la date du 07 avril 2022 l'Afrique a enregistré 11 530 810 avec 252 059 décès reparti comme suite (22).

Les quatre pays signalant le plus de cas sont l'Afrique du Sud : 3 722 954 cas avec 100 050 cas de décès, la Tunisie 1 037 358 cas avec 28 425 cas de décès, le Maroc 1 163 526 cas avec 16 060 cas de décès, l'Égypte 509 177 cas avec 24 473 cas de décès.

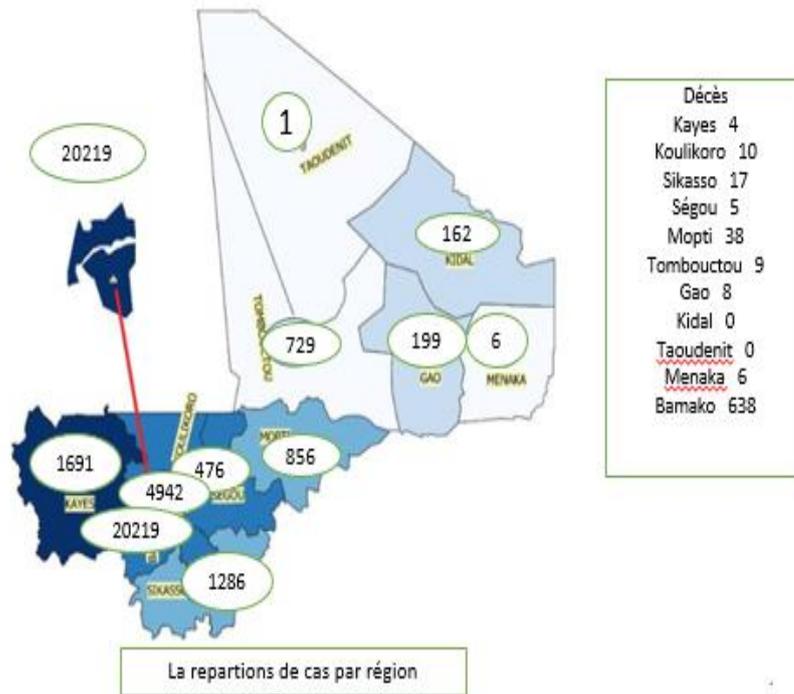
### **3.4.1.3. Au Mali :**

Au cours de la 13<sup>ème</sup> semaine 2020 (24 mars 2020), deux (2) cas suspects non suivis de décès de COVID-19 ont été notifiés dans la région de Koulikoro, district sanitaire de Kalaban- Coro (1 cas) et la région de Kayes, district sanitaire de Kayes (1 cas).

Les cas ont été prélevés et ces échantillons oropharyngés envoyés à l'Institut National de Santé Publique (INSP). Ces échantillons ont été analysés au laboratoire du Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) et se sont révélés positifs au coronavirus par la méthode RT-PCR.

En application du Règlement Sanitaire International RSI (2005), le Ministère de la Santé et des Affaires Sociales a déclaré l'épidémie de la maladie à coronavirus (COVID-19) le Mercredi 25 mars 2020. Des équipes multidisciplinaires ont été mobilisées dans les deux districts sanitaires concernés pour faire l'investigation, la recherche active des contacts, leur suivi et apporter les premières réponses.

Depuis le 25 mars à la date du 10 avril 2022 le Mali a enregistré 30566 cas avec 729 décès reparti comme suite :

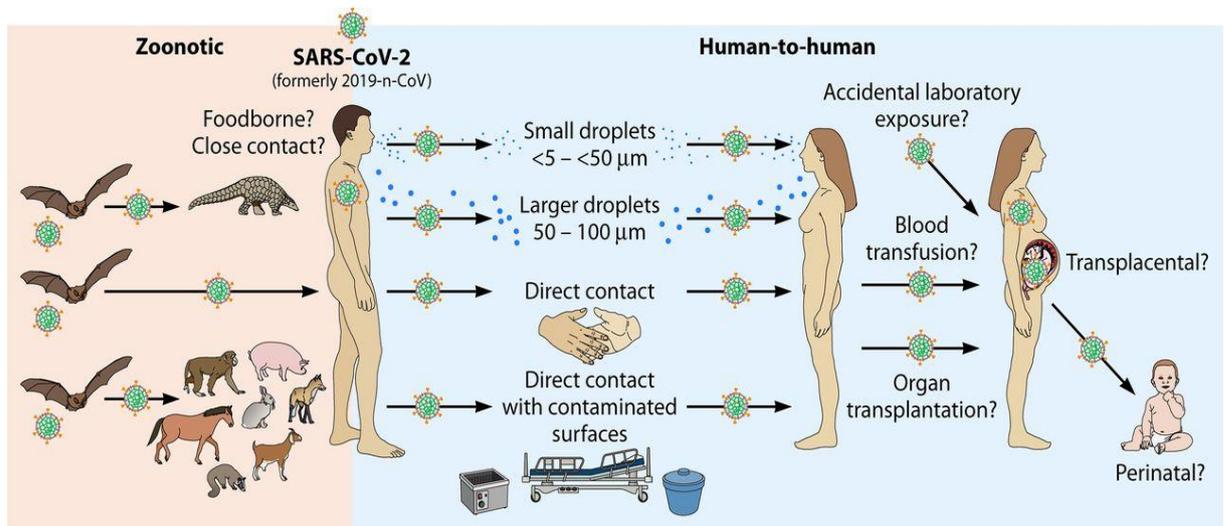


**Figure 10** : le nombre de cas en fonction des régions du Mali (23)

### 3.4.2. La mode transmission :

La majorité des cas initialement décrits concernait des personnes ayant fréquentées un marché d'animaux vivants. L'hypothèse d'une zoonose (maladie transmise par les animaux) est donc privilégiée. La transmission interhumaine a été établie plus tard et on estime qu'en l'absence de mesures de contrôle et prévention, chaque patient infecte entre 2 et 3 personnes.

La transmission se fait essentiellement par voie aérienne (gouttelettes de postillons émises au cours des efforts de toux mais aussi lors de la parole) et passe par un contact rapproché (moins d'un mètre) et durable (au moins 15 minutes) avec un sujet contagieux. Des particules de plus petite taille peuvent aussi être émises sous formes d'aérosols au cours de la parole, ce qui expliquerait que le virus puisse persister en suspension dans l'air dans une pièce non ventilée (et justifie dans ces circonstances le port du masque). Enfin le virus peut conserver une infectiosité pendant quelques heures sur des surfaces inertes d'où il peut être transporté par les mains ce qui justifie une bonne hygiène des mains (13,24,25).



**Figure 11** : les différents modes de transmission (26).

### 3.4.4. La physiopathologie de la maladie de COVID-19

On peut distinguer deux phases dans la maladie qui se superposent un temps.

La première phase est celle de la réplication virale. Le virus pénètre dans les cellules cibles grâce à la liaison de la protéine de surface du virus (protéine « S » pour spicule) avec la membrane externe des cellules possédant à leur surface le récepteur ACE2. Après fixation au récepteur ACE2, les autres étapes du cycle viral comprennent la réplication de l'ARN par l'ARN polymérase ARN dépendante (RdRp), la protéolyse, puis la production de virions.

Chez 10 à 20 % des patients, la maladie respiratoire évoluera dans les 10 jours après le début des symptômes en un syndrome de détresse respiratoire aiguë. Il s'y associe des troubles de la coagulation. Ce phénomène d'hyper-inflammation est lié à une réponse excessive du système immunitaire. Elle fait intervenir des cytokines inflammatoires (TNF alpha, interleukine 1...) et d'autres médiateurs de l'inflammation. Elle semble plus grave en cas de déficit en interféron (IF) de type 1 (IF alpha et IF bêta). Les cellules endothéliales activées par le TNF synthétisent des facteurs de coagulation à l'origine d'une coagulation disséminée dans tous les petits vaisseaux de l'organisme et de phénomènes de thrombose avec obstruction capillaire, voire de plus gros vaisseaux.

Le système immunitaire met en œuvre deux systèmes de défense pour combattre le COVID. L'immunité humorale est médiée par des lymphocytes B produisant des anticorps spécifiques contre le virus et notamment des anticorps neutralisants qui semblent diminuer assez

rapidement après l'infection. L'immunité cellulaire est médiée par des lymphocytes T. Ces deux lignes de défense immunitaire coopèrent et possèdent une mémoire de l'infection qui permet de gagner en efficacité pour limiter les réinfections (27).

### **3.4.5. Manifestations cliniques**

La durée de l'incubation est en moyenne de 5 jours, avec des extrêmes de (2 à 12 jours). L'installation des symptômes se fait progressivement sur plusieurs jours, contrairement à la grippe qui débute brutalement.

Les premiers symptômes sont peu spécifiques : maux de tête, douleurs musculaires, fatigue. La fièvre et les signes respiratoires arrivent secondairement, souvent deux ou trois jours après les premiers symptômes.

Dans les premières études descriptives provenant de Chine, il s'écoule en moyenne une semaine entre l'apparition des premiers symptômes et l'admission à l'hôpital à la phase d'état de la maladie. A ce stade, les symptômes associés : fièvre, toux, douleurs thoraciques et gêne respiratoire et la réalisation d'un scanner thoracique montre presque toujours une pneumonie touchant les deux poumons. D'autres signes cliniques ont été décrits depuis les premières études : des signes d'atteinte du système nerveux central s'exprimant en particulier chez les personnes âgées sous la forme d'une désorientation ; une perte du goût et/ou de l'odorat, qui survient chez 30 à 50% des adultes infectés, avec une prédominance féminine, est évocatrice du diagnostic de covid-19.

La gravité des signes cliniques nécessite le maintien à l'hôpital d'environ 20% des malades et 5% nécessitent une admission en réanimation. Les formes les plus graves sont observées principalement chez des personnes vulnérables en raison de leur âge (plus de 70 ans) ou de maladies associées, en particulier l'obésité.

Des études observationnelles privilégiées ainsi que des travaux de modélisation ont montré que l'infection peut être asymptomatique ou pauci symptomatique (entraîner pas ou peu de manifestations cliniques) chez 30 à 60 ans des sujets infectés, en particulier chez les jeunes enfants (moins de 12 ans) (24,28).

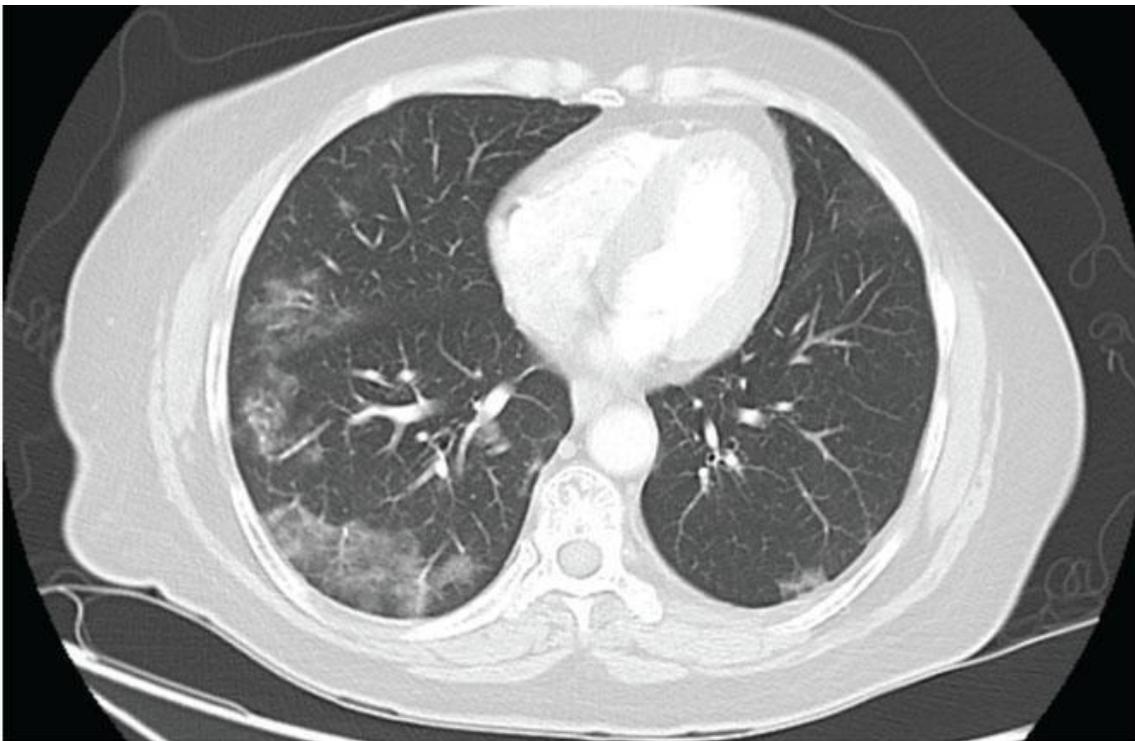
### 3.5. Le diagnostic de la maladie de COVID-19

#### 3.5.1. Diagnostic clinique :

##### La tomodensitométrie thoracique

La tomodensitométrie (TDM) thoracique a aussi joué un rôle majeur dans la prise en charge initiale des patients. La TDM thoracique permet non seulement une évaluation de l'importance de l'atteinte pulmonaire, mais elle a aussi une bonne valeur prédictive négative pour le diagnostic de la Covid-19 dans le contexte précédemment décrit. Il est important de garder à l'esprit que la sensibilité de la TDM thoracique est globalement faible les trois premiers jours de la maladie.

Les signes radiologiques caractéristiques de la Covid-19 sont les suivants : des opacités en verre dépoli, non systématisées, multifocales, bilatérales, et asymétriques, de localisation sous pleurale à prédominance basale et postérieure. L'évolution des images en verre dépoli se fait vers un aspect de crazy paving : apparition secondaire de réticulations intra lobulaires (dont le pic se situe vers le dixième jour) et de condensations linéaires. Dans les formes graves, la proportion de condensation pulmonaire versus verre dépoli est plus élevée (29).



Condensations en verre dépoli basales bilatérales, sous-pleurales, caractéristiques de la maladie

**Figure 12** : La tomodensitométrie thoracique d'une pneumonie du SRAS-CoV-2 (29).

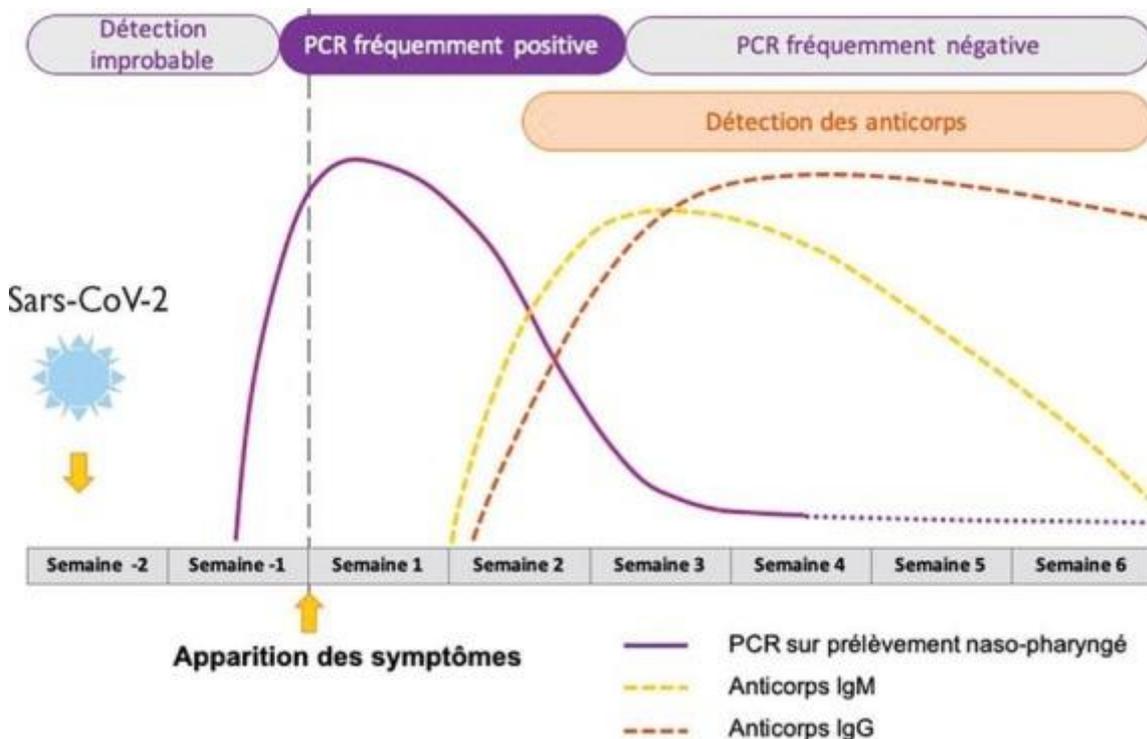
Dans le contexte pandémique, le risque de porter à tort un diagnostic de la Covid-19 étant élevé, les recommandations ont mis en exergue les points suivants : la présence de micronodules bronchiolaires, d'adénopathies médiastinales et d'épanchements pleuraux doit faire considérer un autre diagnostic.

Curieusement, il n'y a pas de parallélisme strict entre la survenue de symptômes et celle des signes radiologiques, puisqu'il a été constaté la présence de signes radiologiques caractéristiques de la Covid-19 chez des patients ayant une infection asymptomatique.

### 3.5.2. Diagnostic biologique

#### ➤ Quand prélever ?

Le prélèvement doit prendre en compte la dynamique de l'excrétion respiratoire. Elle atteint son maximum à la fin de la première semaine après contamination, juste avant et pendant les trois premiers jours qui suivent l'apparition des symptômes. Elle diminue ensuite lorsque la réponse immunitaire (IGM puis IGG) apparaît. Au-delà de la première semaine, on observe une meilleure détection au niveau des prélèvements profonds et des selles (30).



**Figure 13** : Cinétique des marqueurs diagnostiques en fonction du stade de l'infection.

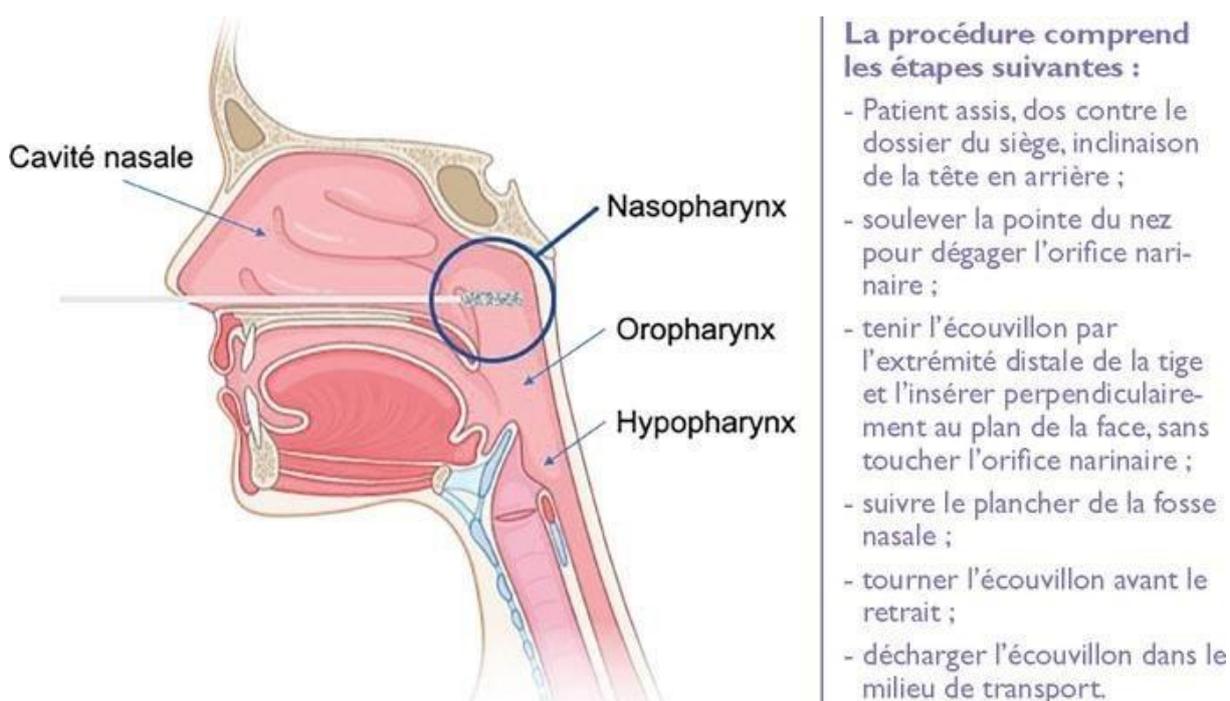
### ➤ Les types de prélèvements :

Il est recommandé de prélever des échantillons

Des voies respiratoires supérieures, tels que des écouvillonnages nasopharyngés, des écouvillonnages oropharyngés, des lavages nasopharyngés et des aspirations nasales.

Cependant, chez les patients présentant une toux, l'échantillon est généralement prélevé dans les voies respiratoires inférieures, y compris les expectorations, le liquide de lavage broncho alvéolaire (LBA).

Autres types de prélèvement : les aspirations trachéales, la salive, les larmes, le sang, les voies génito-urinaires pour les tests rapides. Les prélèvements salivaires ont été envisagés car moins désagréables mais leurs sensibilités sont variables selon les études ; ne permettent pas encore de les recommander de façon large(30).



**Figure 14 :** Coupe sagittale des voies aériennes supérieures illustrant les modalités de réalisation d'un prélèvement rhino-pharyngé avec un écouvillon.

Quant aux prélèvements plus profonds (expectorations, lavages broncho-alvéolaires), ils ne peuvent être envisagés qu'en cas d'hospitalisation. Une excrétion virale a été démontrée dans

les selles mais le lien entre la positivité dans les selles et le risque de contamination n'a pas été établi (30).

➤ **Les milieux de transport VTM et UTM**

**VTM :**

Le milieu de transport viral permet le transfert en toute sécurité de virus pour des recherches ultérieures, y compris les méthodes conventionnelles de culture cellulaire, les tests de diagnostic et les techniques de biologie moléculaire.

Les milieux de transport viraux préparés commercialement sont disponibles dans un tube plastique à bouchon à vis contenant des protéines tamponnées (sérum, albumine ou gélatine) et des antibiotiques. Les antibiotiques sont généralement incorporés dans le milieu de transport viral pour supprimer la croissance des bactéries et des champignons contaminants, de sorte que des échantillons séparés du même site doivent être collectés si des cultures bactériennes ou fongiques sont également demandées (31).

**UTM**

Le milieu UTM (Universal Transport Medium) est un milieu de conservation unique à de multiples applications culture, immuno-enzymologie, PCR pour virus et autres agents pathogènes. Le UTM permet d'en utiliser qu'un seul.

➤ **Condition de transport des échantillons :**

Les échantillons collectés pour la détection de la maladie à virus SARS-CoV-2 doivent être conditionnés et expédiés sans tenter d'ouvrir les emballages, tubes de prélèvements ou les aliquotes.

Les échantillons à expédier doivent être conditionnés suivant le système de base du triple emballage.

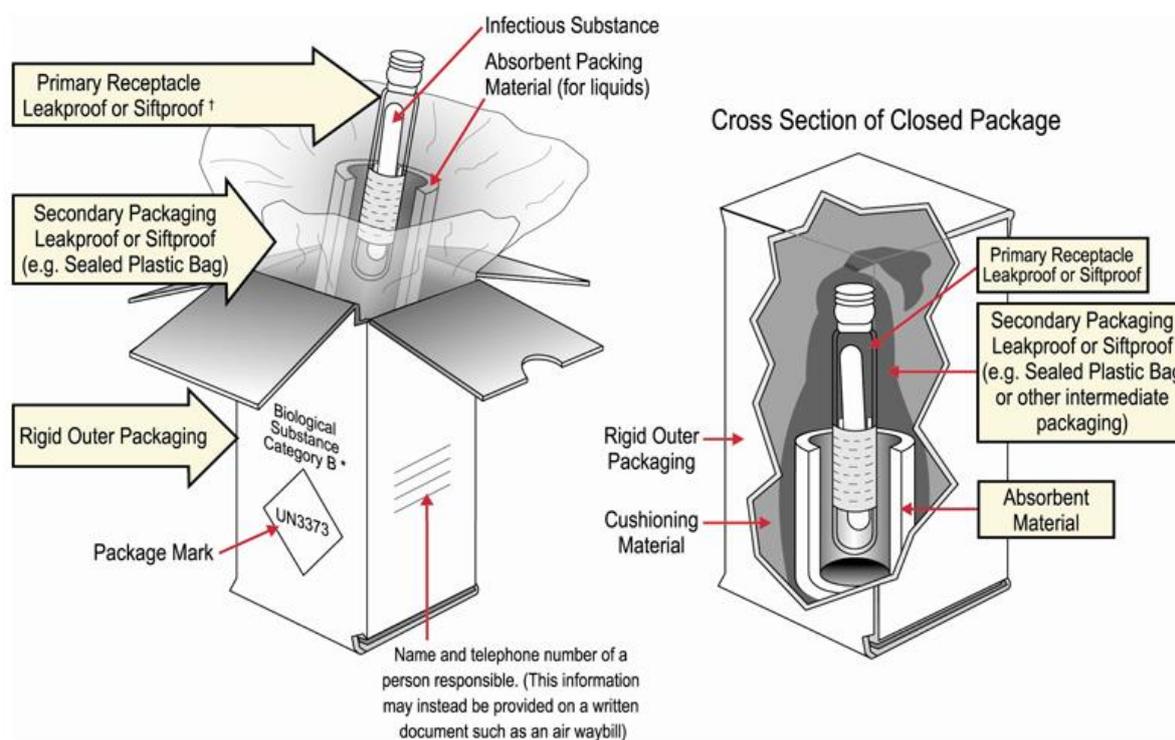
Triple emballer les spécimens dans :

- Réceptacle primaire étanche ; plusieurs réceptacles primaires doivent être emballés individuellement ou séparés
- Réceptacle secondaire étanche, qui peut avoir la capacité de contenir plusieurs conteneurs primaires.

- Emballage extérieur rigide ou solide, qui protège les conteneurs de l'intérieur pendant le transport

Si l'échantillon est un liquide, placez un matériau absorbant entre le réceptacle primaire et le réceptacle secondaire.

Placez une liste du contenu et des documents entre le récipient secondaire et l'emballage extérieur(32).



**Figure 15** : présentation du triple emballage selon CDC(33).

### 3.5.2.1. Diagnostic biologique directe :

- **Tests d'amplification des acides nucléiques :**

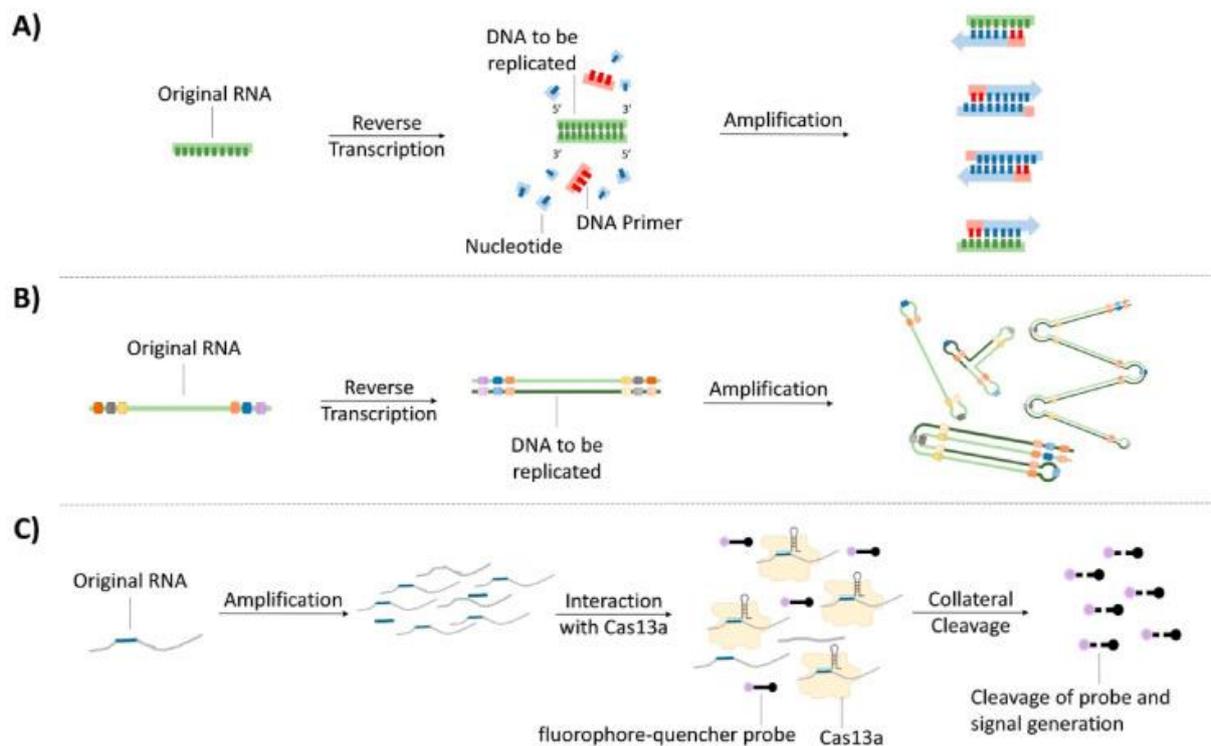
Fiabilité Trois défis majeurs du diagnostic moléculaire sont :

- détecter de petites quantités d'ARN viral pour réduire le nombre de faux négatifs ;
- différencier le signal positif parmi différents pathogènes pour diminuer le nombre de faux positifs ;
- devoir un débit important, afin de tester rapidement un grand nombre de patients.

Des tests moléculaires et sérologiques ont été précédemment comparés au cours de l'épidémie de SRAS-CoV, montrant une sensibilité et une spécificité accrues pour les méthodes moléculaires. Pour cette raison et compte tenu de la physiopathologie de l'infection à SRAS-CoV-2, la PCR en temps réel après transcription inverse (qRT-PCR) est le test validé pour le diagnostic précoce chez les patients suspectés d'infection par le SRAS-CoV-2.

La méthode proposée pour la confirmation de routine des cas infectés et la détection du SRAS-CoV-2 par l'OMS et la Food and Drug Administration (FDA) est la réaction en chaîne par polymérase de transcription inverse (RT-PCR), qui est l'un des tests d'amplification d'acide nucléique. Les TAAN sont des tests moléculaires qui ciblent des séquences d'acides nucléiques spécifiques de l'agent pathogène pour identifier sa présence dans l'échantillon obtenu du patient suspect. Le NAAT SRAS-CoV-2 cible des gènes viraux spécifiques, tels que le gène de la nucléocapside (N), le gène de l'enveloppe (E), le gène S et le gène de l'ARN polymérase ARN dépendante (RdRP), des voies respiratoires du patient suspect et amplifie ensuite l'ARN du virus à l'aide de techniques moléculaires, notamment la réaction en chaîne par polymérase à transcription inverse en temps réel (**qRT-PCR**). Il illustre la structure du SRAS-CoV-2 et ses protéines.

D'autres techniques moléculaires ont été développées pour la détection du SRAS-CoV-2, notamment l'amplification isotherme à médiation par la boucle (LAMP), la transcription inverse LAMP (RT-LAMP), la qRT-LAMP en temps réel (**qRT-LAMP**) et le dosage de déverrouillage enzymatique à haute sensibilité (**SHERLOCK**). Il illustre le principe de fonctionnement principal de ces trois méthodes moléculaires. De nombreux chercheurs et entreprises de fabrication de produits médicaux ont développé des kits de détection moléculaire de COVID-19 pour identifier la présence du SRAS-CoV-2 dans les voies respiratoires des patients. Il est à noter que, comme l'extraction de l'ARN doit être effectuée dans une armoire de sécurité biologique avec une installation de niveau de sécurité biologique 2, tous les kits de détection développés sont utilisés par des laboratoires autorisés, et non par les patients eux-mêmes. Certains kits de détection moléculaire actuellement existants pour le SRAS-CoV-2 disponibles auprès de divers instituts de recherche et entreprises et sont résumés dans le tableau (34).



**Figure 16** : schémas des techniques moléculaires (35).

**A**, le principal de détection de l'ARN viral cible basé sur la transcription inverse de l'ARN cible en ADN et l'amplification.

**B**, illustration de la technologie LAMP avec les structures finales d'ADN accumulées ; cette méthode est expliquée en détail dans figure 16.

**C**, un schéma du test SHERLOCK a commencé par l'amplification de l'ARN cible et son interaction avec Cas13a, qui est suivie par le clivage de la sonde et la génération d'un signal fluorescent.

### - qRT-PCR

Le test de référence de dépistage du SRAS-CoV-2 repose sur la détection de l'ARN viral par qRT-PCR sur prélèvements rhino-pharyngés dont les performances seraient meilleures que sur prélèvement oro-pharyngés.

La qRT-PCR est un processus d'amplification génique composé de différentes étapes avec des conditions environnementales spécifiques. En général, la qRT-PCR est le processus de transcription inverse de l'ARN du SRAS-CoV-2, en ADN complémentaire (ADNc), puis la conception d'amorces et d'une sonde fluorophore-extincteur pour amplifier des parties spécifiques du ADNc et l'obtention de résultats quantifiés sur la présence du SRAS-CoV-

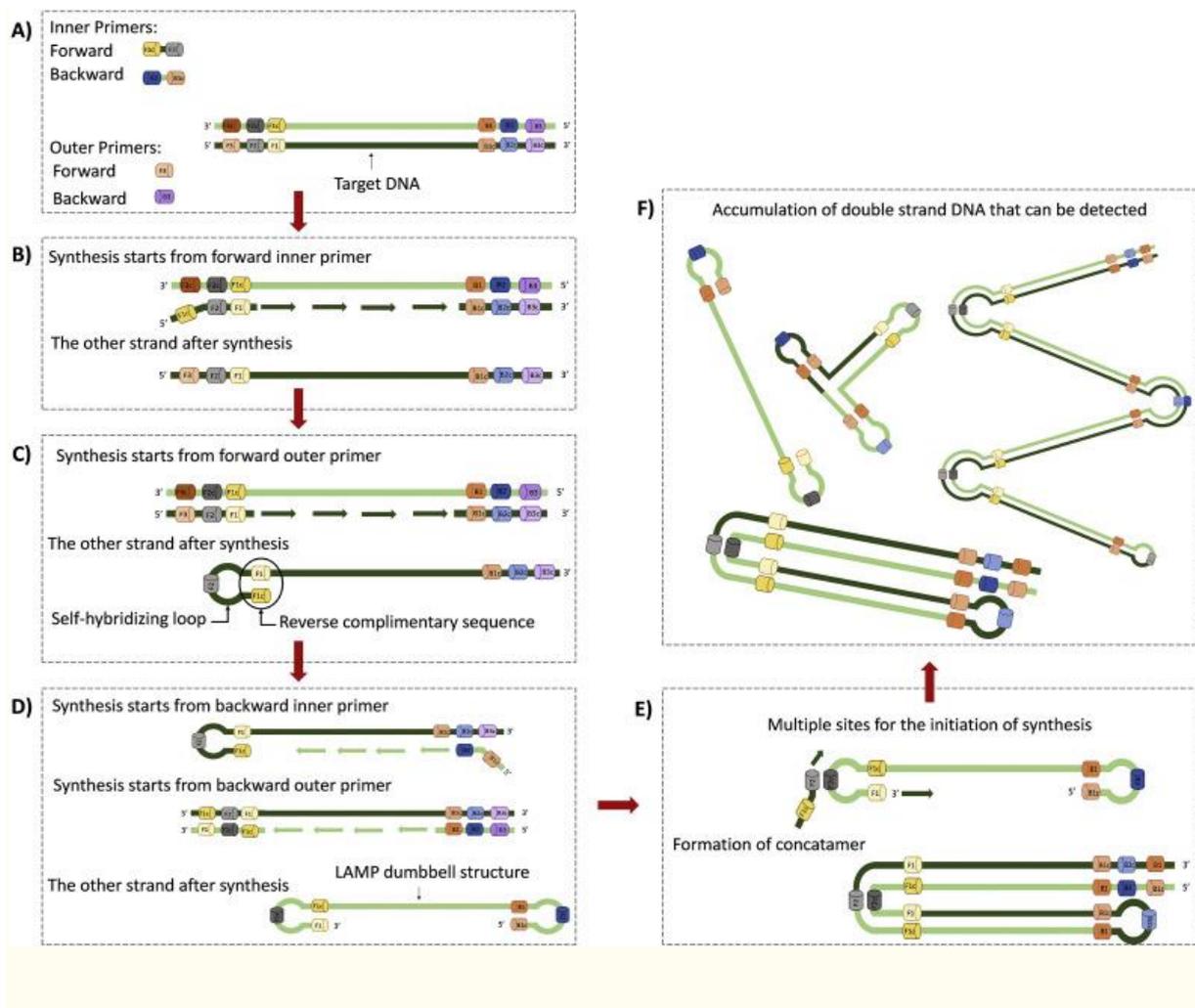
2. Ce processus commence par l'extraction de l'ARN des voies respiratoires supérieures ou inférieures. L'ARN extrait des échantillons est ensuite ajouté à un mélange contenant tous les tampons, enzymes, amorces, sondes et précurseurs nécessaires, y compris de l'eau sans nucléase, une transcriptase inverse, une polymérase, des additifs, des amorces directes et inverses, une sonde fluorophore-extincteur, et nucléotides. Dans la qRT-PCR, le mélange est placé dans un thermocycleur et la série de températures et de périodes est définie pour exécuter les cycles. A chaque cycle, le clivage de la sonde fluorophore-extincteur se traduit par un signal fluorescent qui est détecté par le thermocycleur pour communiquer des informations sur le processus en temps réel.

Alors que le CDC américain établit les conditions de cycle pour la qRT-PCR, deux des principales variables restantes sont la séquence ciblée pour l'amplification et la conception des amorces et de la sonde. Il existe trois régions conservées du génome du coronavirus/SRAS : le gène RdRP situé dans le cadre de lecture ouvert ORF1ab, le gène N et le gène E. Le ciblage du gène RdRP et E fournit des limites de détection plus faibles. Par conséquent, une sensibilité plus élevée par rapport au gène N, c'est pourquoi la plupart des kits développés pour la détection du SRAS-CoV-2 ont ciblé le RdRP et le gène E. Une autre variable des résultats finaux des kits de test de détection est le temps pendant lequel les échantillons ont été prélevés, car la charge virale varie selon les jours suivant l'infection. Par conséquent, un résultat négatif ne conclurait pas à l'absence de maladie et pourrait être le résultat d'une faible charge virale dans l'échantillon du système au moment où il a été prélevé ou d'éventuels problèmes qui auraient pu survenir lors de l'échantillonnage (34).

#### - **qRT-LAMP :**

Certaines technologies moléculaires exploitent l'amplification des acides nucléiques de manière isotherme et avec des réglages plus simples, contrairement aux technologies basées sur la PCR qui nécessitent un thermocycleur, car elles consistent en différentes étapes fonctionnant à différentes températures. Ces technologies incluent LAMP, RT-LAMP et qRT-LAMP. En bref, l'ADN polymérase avec plusieurs amorces, six ou quatre comme amorces internes et externes, est utilisée pour amplifier la séquence cible. La première étape qRT-LAMP est la transcription inverse pour obtenir une structure d'ADN et est suivie de la deuxième étape qui est la mise en œuvre de la technique LAMP pour amplifier l'ADN cible. Au cours de la première étape, l'ARN est transcrit de manière inverse en ADNc. La deuxième étape, l'amplification d'acide nucléique, est basée sur la synthèse d'ADN par

déplacement de brin à cycle automatique par des amorces internes et externes conduisant à une structure d'ADN en forme d'haltère. Dans le processus d'amplification, la structure en forme d'haltère avec de nombreux sites pour l'initiation de la synthèse d'ADN se transfère en longs concatémères, chacun avec encore plus de sites pour l'initiation de la synthèse d'ADN. Cette dernière étape se traduit par l'accumulation de différentes structures d'ADN ayant la même séquence d'ADN cible et qui peut être détectée en temps réel en fonction de la turbidité ou après amplification en utilisant une analyse sur gel d'agarose. La qRT-LAMP est une technique simple et pratique car les résultats sont analysés par le changement de couleur, de fluorescence ou de turbidité dans les tubes PCR. Comme la qRT-LAMP utilise plus d'amorces par rapport à la qRT-PCR, elle a une spécificité plus élevée.



**Figure 17 :** Illustration de la technologie LAMP pour amplifier l'ADN double brin cible

Illustration de la technologie LAMP pour amplifier l'ADN double brin cible. A) Sur la base de la séquence de l'ADN cible, quatre ou six amorces sont conçues pour le processus d'amplification. B) Premièrement, les deux brins se détachent et l'amorce interne directe

s'attache pour initier la synthèse d'ADN. C) Ceci est suivi de la deuxième séparation des brins, de la formation d'une boucle d'auto-hybridation dans l'un des brins, puis de la fixation de l'amorce externe directe à l'autre brin et de l'initiation de la synthèse d'ADN. D) Le même processus se produit avec les amorces arrière, conduisant ainsi à la formation d'une structure d'haltère LAMP. E) Comme la structure en haltère a plus de sites d'initiation pour la synthèse d'ADN, les concatémères formés ont encore plus de sites pour l'initiation de la synthèse d'ADN. F) (34).

### ➤ **Immuno-essais**

Les immuno-essais sont des tests biochimiques développés pour détecter la présence et la concentration d'un biomarqueur spécifique à l'aide d'antigènes ou d'anticorps. Le mécanisme de détection est basé sur une réaction d'affinité compétitive entre le biomarqueur cible (antigène ou anticorps) et d'autres molécules dans un échantillon pour des sites de liaison limités fournis par le réactif de capture immobilisé (anticorps ou antigène). Les immuno-essais développés pour le diagnostic de COVID-19 mesurent soit la présence de l'antigène SRAS-CoV-2, appelés tests antigéniques, soit l'anticorps anti-SRAS-coV-2 produit pour lutter contre le SRAS-CoV-2, appelés tests sérologiques. De nombreux chercheurs et entreprises de fabrication de dispositifs médicaux ont développé et étudié des immuno-essais COVID-19 pour identifier la présence d'antigènes ou d'anticorps correspondants chez les patients COVID-19.

### ➤ **Tests d'antigènes**

Les tests antigéniques sont un autre ensemble de tests immunologiques pouvant être utilisés pour le diagnostic de COVID-19. Ce type de test détecte la présence d'antigènes viraux et peut donc être mis en œuvre pour détecter l'infection actuelle avec laquelle le patient se bat, mais il est incapable de fournir des informations sur les infections passées. Les échantillons pour le test d'antigène sont généralement prélevés dans la cavité nasale à l'aide d'échantillons oropharyngés, nasopharyngés ou d'écouvillonnage nasal. Les tests d'antigène ne nécessitent pas d'équipement de laboratoire spécial, de personnel hautement qualifié ou de réactifs spécifiques tels que ceux nécessaires pour les tests moléculaires. Par conséquent, ils sont rentables à la fois pour la production de masse et l'administration. Les tests d'antigène renvoient les résultats en 15 à 20 minutes, ce qui les rend adaptés au dépistage de masse dans les communautés comptant un nombre élevé de patients et un risque élevé pour les autres.

Le développement de tests antigéniques hautement sensibles et spécifiques pose certains défis, l'un des principaux défis est de choisir les bons anticorps. En supposant qu'un test d'antigène pour la protéine S du SRAS-CoV-2 soit développé avec succès, les deux meilleurs anticorps auraient une forte affinité pour la protéine S sur des sites séparés, n'interféreraient pas l'un avec l'autre et ne se croiseraient pas avec les protéines S d'autres coronavirus. Le deuxième défi est l'intensité du signal. Contrairement aux méthodes moléculaires, les tests antigéniques n'amplifient pas la molécule cible et pour cette raison, la sensibilité de ces tests est faible par rapport aux tests moléculaires. De plus, le meilleur moment pour effectuer ces tests est lorsque la charge virale est à son plus haut niveau (34).

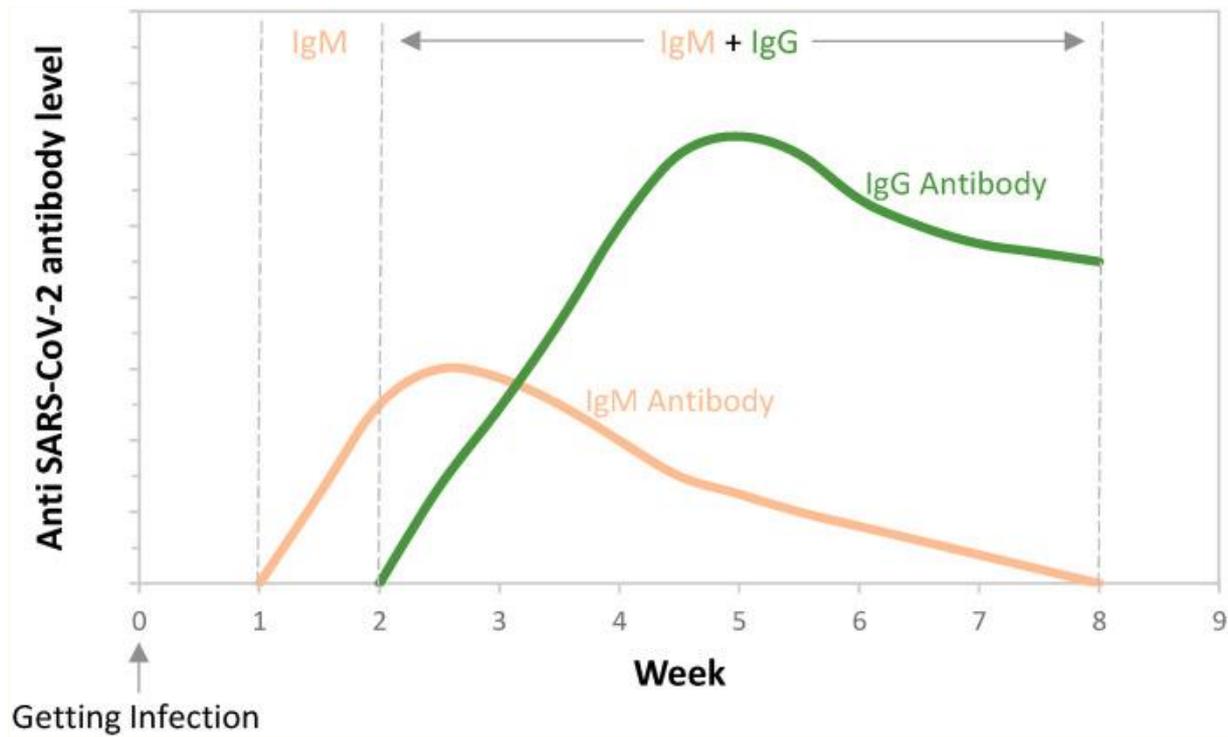
### **3.5.2.2. Diagnostic biologique indirecte :**

#### **➤ Tests sérologiques :**

Lorsque notre corps est infecté par un agent pathogène tel que le SRAS-CoV-2, le système immunitaire est déclenché pour lutter contre cet agent pathogène. L'un de ces mécanismes du système immunitaire global produit des anticorps qui se fixent aux agents pathogènes pour les inactiver et contribuer à leur élimination ultérieure. Par conséquent, une méthode de diagnostic de COVID-19 dans les cas suspects est un test sérologique où la présence et le niveau d'anticorps dans le sang sont mesurés. Contrairement aux tests moléculaires qui détectent le génome du SRAS-CoV-2, les tests sérologiques détectent la réponse immunitaire du corps dans les cas où l'individu est porteur du SRAS-CoV-2, et la réponse immunitaire a été développée. Comme la réponse du système immunitaire au virus prend du temps à se développer, les tests sérologiques offrent un délai plus large pour le diagnostic de COVID-19.

Habituellement, deux types d'anticorps sont recherchés dans un test sérologique : l'immunoglobuline M (IgM) et l'immunoglobuline G (IgG). La présence et le niveau d'immunoglobuline A (IgA) sont également étudiés et mesurés dans les bilans sérologiques. Les IgA sont principalement présentes dans les muqueuses telles que les voies respiratoires et digestives. Ils peuvent également être trouvés dans la salive, les larmes, le sang, les voies génito-urinaires et le nasopharynx. L'IgM est un anticorps général développé en tant que réponse immunitaire initiale du corps à de nombreux agents pathogènes ; L'IgM est un signe d'infection récente ou active. Alors que notre corps essaie de développer des réponses immunitaires plus spécifiques à une infection telle que COVID-19, l'anticorps IgG contre l'infection est développé. Les IgA peuvent favoriser les mécanismes de cave à médiation par les anticorps qui conduisent à un contrôle et à une inhibition supplémentaire

des infections par les micro-organismes. Démontre le niveau approximatif d'anticorps IgM et IgG à différentes semaines après l'infection. Comme les IgG sont plus spécifiques aux agents pathogènes, la plupart des tests sérologiques mesurent la quantité d'anticorps IgG. Cependant, le développement de l'anticorps IgG peut prendre plus de temps, voire jusqu'à trois semaines. Toutes les informations susmentionnées sur les anticorps IgM, IgG et IgA permettent de conclure que les tests sérologiques sont plus pratiques dans la surveillance du COVID-19 et peuvent fournir des informations utiles sur les individus luttant contre la COVID-19 ou ceux qui en ont survécu... En revanche, l'un des inconvénients des tests sérologiques est la possibilité d'imprécision, car il existe un potentiel de réactivité croisée entre les anticorps générés contre le SRAS-CoV-2 et ceux générés contre d'autres coronavirus. Une étude a illustré la réactivité croisée entre les anticorps contre la protéine S du SRAS-CoV-2 et du SRAS-CoV, respectivement. Pour pallier cette limitation, plusieurs techniques peuvent être mises en œuvre pour améliorer la spécificité des tests sérologiques. Par exemple, des anticorps ciblant d'autres épitopes du SRAS-CoV-2 peuvent être utilisés pour réduire la possibilité de réactivité croisée. De plus, une double stratégie de sélection peut être utilisée pour améliorer la précision des tests sérologiques. De plus, certaines étapes de préparation des échantillons peuvent être ajoutées avant le test sérologique. Ceux-ci incluent l'ajout de certains réactifs de blocage pour inhiber une interaction supplémentaire du SRAS-CoV avec l'anticorps ou rendre l'environnement compétitif pour le SRAS-CoV-2 et le SRAS-CoV afin de favoriser une affinité plus élevée envers le SARS-CoV-2, le rendant plus attrayant pour son interaction avec l'anticorps. Plus important encore, diverses technologies d'intelligence artificielle (IA), y compris l'apprentissage automatique et l'apprentissage en profondeur, peuvent être mises en œuvre pour développer des anticorps avec des affinités plus élevées envers le SRAS-CoV-2 par rapport au SRAS-CoV (34).

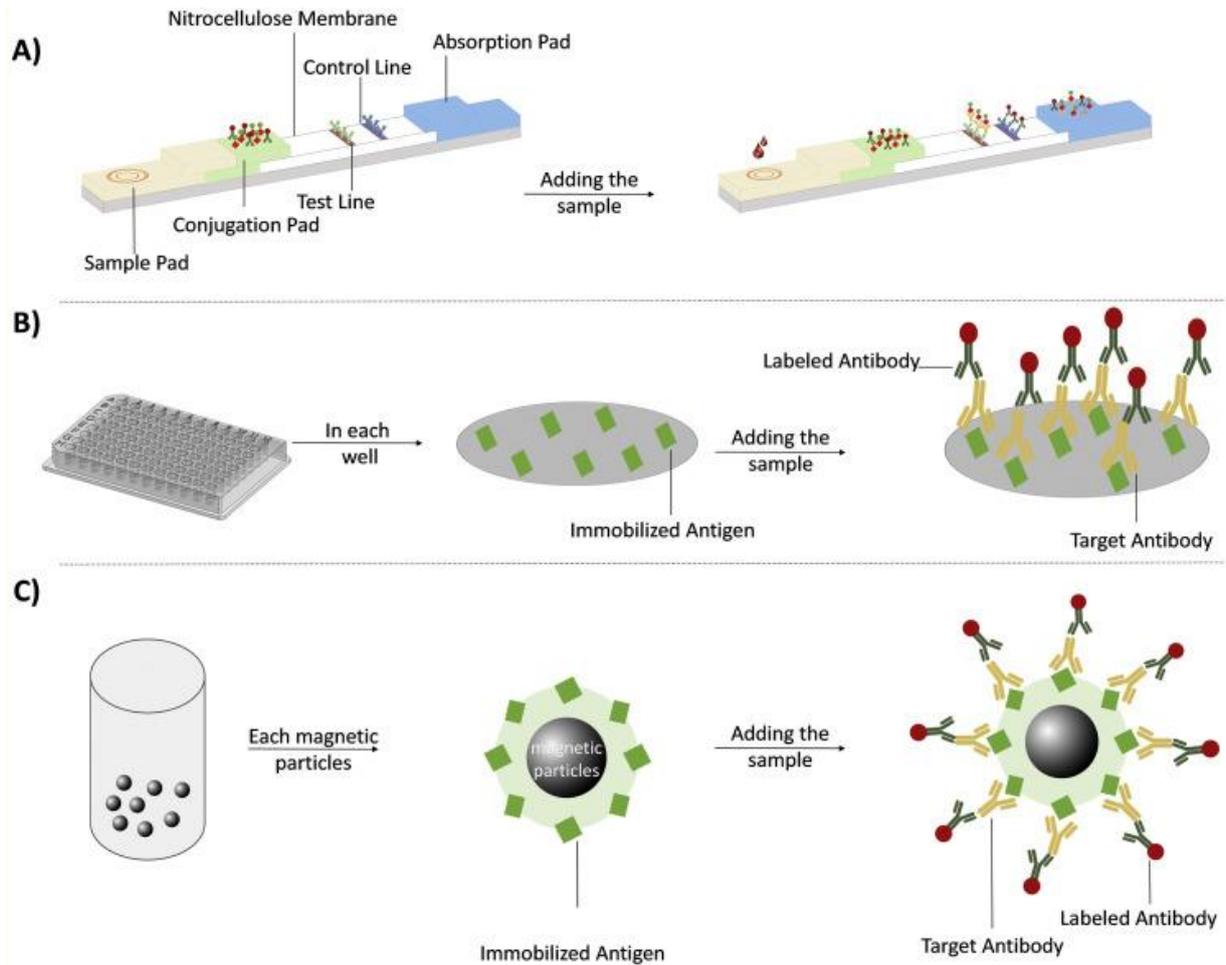


**Figure 18** : Le niveau approximatif d'anticorps IgM et IgG générés contre le SRAS-CoV-2 à différentes semaines après l'infection (35).

Le niveau approximatif d'anticorps IgM et IgG générés contre le SRAS-CoV-2 à différentes semaines après l'infection. Sur la base des études menées, il y aurait une ou deux semaines sans symptômes et sans anticorps dans l'échantillon de sang, c'est-à-dire pendant le temps d'incubation. Ensuite, les anticorps IgM sont produits en tant que réponse immunitaire initiale suivie de la formation d'anticorps IgG pour développer une réponse immunitaire plus spécifique.

De nombreux chercheurs ont développé des tests sérologiques pour la détection du SRAS-CoV-2.

**Un dosage immuno-enzymatique (ELISA)** développé pour détecter les IGM et IGG dans le sérum de patients COVID-19, a déterminé que la concentration d'anticorps IGM et IGG augmente au cours de la première semaine d'infection. Les entreprises se sont également efforcées de développer des tests sérologiques pour contrôler la propagation du virus. Le principe de base de la détection des anticorps anti-SARS-CoV-2 dans les tests sérologiques développés est résumé dans le figure :18 (34).



**Figure 19 :** Illustration schématique des tests sérologiques pour le diagnostic COVID-19

**A.** Le principal principe de détection de l'anticorps anti-SRAS-CoV-2 sur un à flux latéral est qu'après avoir ajouté l'échantillon, le sang se déplace à travers la bandelette réactive et les anticorps présents dans l'échantillon atteignent la ligne de test et la ligne de contrôle, conduisant à un changement de couleur dans ces lignes.

**B.** Une illustration de la plaque ELISA et la composition de chaque puits. Après avoir ajouté l'échantillon, les anticorps anti-SRAS-CoV-2 se fixent à l'anticorps immobilisé, après quoi les anticorps marqués sont ajoutés pour obtenir un signal.

**C.** Une illustration du dosage immunologique des microparticules chimiluminescences (CMIA) ; des anticorps spécifiques sont immobilisés sur chaque particule pour interagir avec l'anticorps cible après l'ajout de l'échantillon, puis des anticorps marqués sont utilisés pour fournir un signal indiquant la présence de l'anticorps cible.

### 3.5.3. SEQUENCAGE :

Des technologies qui permettent de déterminer la succession des nucléotides, c'est-à-dire la séquence d'une molécule d'acide nucléique (ADN ou ARN) existent depuis les années 70 (36)

La lecture de cette séquence permet d'étudier l'information biologique contenue par celle-ci. Étant donné l'unicité et la spécificité de la structure de l'ADN chez chaque individu, la séquence de l'ADN permet de nombreuses applications dans le domaine de la médecine, comme, par exemple, le diagnostic, les études génétiques, l'étude de paternité, la criminologie, la compréhension de mécanismes physiopathologiques, la synthèse de médicaments, les enquêtes épidémiologiques (37)

Un bref historique des évolutions du séquençage de l'ADN permet de comprendre ce que certains nomment révolution technologique, certainement concernant l'univers de la biologie moléculaire une innovation comparable à celle la PCR (38)

**Allan Maxam, Walter Gilbert** (USA) et **Frederick Sanger** (Royaume-Uni), les pionniers de la conquête de la séquence, ont mis au point deux méthodes très différentes permettant d'accéder à la lecture de la séquence. **Maxam et Gilbert** ont exploité des stratégies de dégradation chimique sélective, Sanger a choisi une stratégie de synthèse enzymatique sélective. Pour ces découvertes, **Gilbert et Sanger** ont été récompensés par le prix Nobel de chimie en 1980. L'histoire ne retient effectivement que Sanger, à juste titre, puisque cette stratégie bénéficiant de l'invention de la PCR (invention de **kary Mullis** publiée en 1986, lui aussi nobélisé par le prix de chimie en 1993) et du développement de l'électrophorèse capillaire, permettant de simplifier la partie séparative et analytique (38)

#### 3.5.3.1. La méthode de Maxam-Gilbert

Il s'agit d'une méthode chimique de séquençage. Les réactifs clivent spécifiquement après chacune des bases A, C, G, [A + G], [C + T]. Cette technique est basée sur la propriété de certains agents chimiques, l'hydrazine, le diméthyl sulfate (DMS) et l'acide formique, de modifier les bases de l'ADN. Dans un second temps, la pipéridine est ajoutée et « casse » les brins d'ADN au niveau des bases modifiées. Les agents chimiques sont utilisés dans des conditions telles qu'ils n'agissent qu'avec un faible pourcentage des bases de l'ADN étudié. Le DMS agit au niveau des bases « G ». L'acide formique agit au niveau des bases « A + G ». L'hydrazine agit au niveau des bases « C + T » (en milieu alcalin, l'hydrazine agit

uniquement au niveau des « C »). L'ADN à séquencer est marqué à une extrémité. Le plus souvent, il s'agit d'un marqueur radioactif. Le produit de séquence est déposé sur un gel d'acrylamide, puis la séquence lue après autoradiographie (Figure 19, Figure 20). L'ADN étudié peut être simple ou double brin. Cette technique permettait d'analyser des fragments allant jusqu'à 500 pb (37).

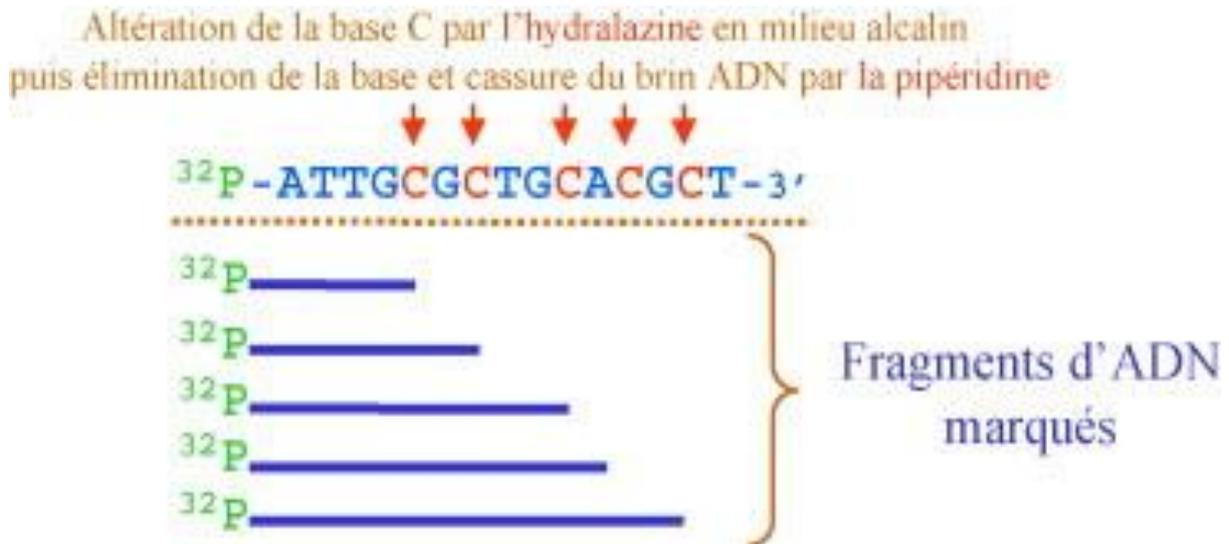
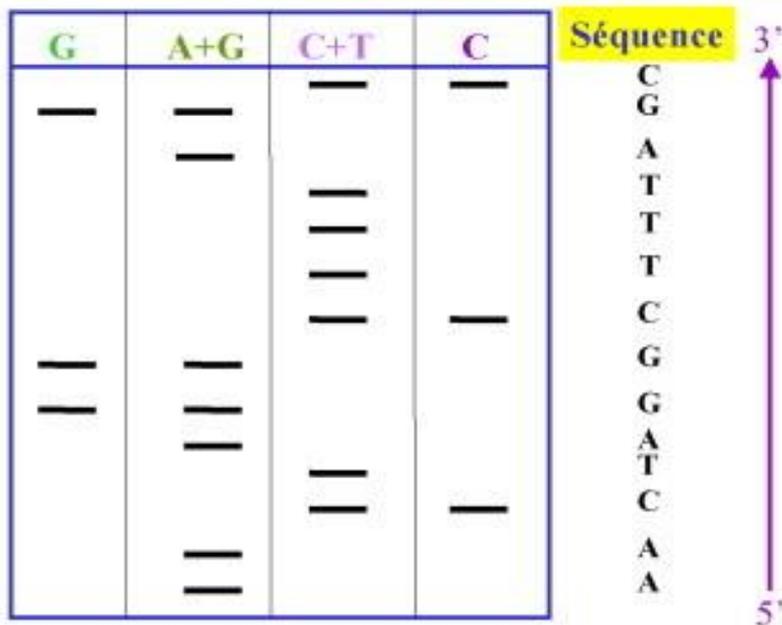


Figure 20 : Technique de Maxam-Gilbert (37).

Technique de Maxam-Gilbert. Cette technique est une méthode chimique de traitement de l'ADN. Un fragment amplifié par PCR et marqué radioactivement par le phosphore radioactif ( $P^{32}$ ) est modifié par un agent chimique, par exemple l'hydralazine. Celle-ci modifie les bases C et T et en milieu alcalin, uniquement les bases C (comme dans ce schéma). Dans un second temps, l'addition de pipéridine casse de manière aléatoire et au moins une fois au niveau de chaque base C modifiée. On obtient donc des fragments de taille différente (37).

### Autoradiogramme après traitement chimique des fragments



Séquence: 5' -AACTAGGCTTTAGC-3'

Figure 21 : Dans quatre tubes différents (37).

Dans quatre tubes différents, l'ADN cible est traité par chacun des produits de modification spécifique de base (hydralazine C + T ; hydralazine C en milieu alcalin ; diméthyl sulfate G ; acide formique A + G), suivi d'un traitement par la pipéridine. Les fragments coupés aléatoirement et au moins une fois après chaque base spécifique sur l'ADN cible sont de taille différente. La migration de ces derniers dans un gel d'acrylamide spécifique suivie d'une autoradiographie permet de déduire la séquence de l'ADN au cours de la lecture du gel dans le sens 5' → 3' de bas en haut du gel (37).

### 3.5.3.2. La méthode de Sanger et de séquençage de nouvelle génération

Le séquençage Sanger d'un fragment d'ADN nécessite d'abord de le cloner dans un plasmide, qui est ensuite introduit dans une cellule hôte, en général une bactérie ou une levure (Figure 21). En se multipliant, cette cellule hôte produit un grand nombre de copies de chaque fragment d'ADN d'origine. Après purification, cet ADN peut être séquencé en utilisant une polymérase qui synthétise un brin complémentaire à partir d'un brin matrice du fragment d'ADN d'intérêt ; quand la polymérase incorpore un des quatre « didésoxynucléotides » (ddATP, ddCTP, ddGTP, ou ddTTP présents séparément dans quatre réactions individuelles), la synthèse s'arrête. Cela génère un mélange de molécules qui se terminent à chaque position où se trouve un A, un C, un G, ou un T (selon le type de didésoxynucléotide présent). Les

fragments dans ce mélange sont séparés selon leur taille par électrophorèse sur gel. La connaissance du didésoxynucléotide qui a été incorporé dans chaque réaction permet ainsi de déduire la séquence du fragment d'ADN d'intérêt.(36),(39)

Après la complétion du projet de séquençage du génome humain, l'ambition était de séquencer un grand nombre de génomes afin d'étudier la variation génétique et de réaliser des études d'association pangénomique, dans lesquelles on essaye d'identifier des liens entre des maladies génétiques et des profils génétiques spécifiques. Dans ce but, des méthodes de séquençage de nouvelle génération (*next-generation sequencing*, NGS) ont été développées. Ces méthodes partagent trois améliorations majeures par rapport au séquençage Sanger.

- Au lieu d'un clonage moléculaire des fragments d'ADN suivi par l'introduction dans des cellules hôtes et l'isolement de chaque clone individuellement, une banque qui contient l'ensemble des fragments est faite directement dans un tube (*in vitro*). La Figure 21 montre de façon schématique la procédure ; des fragments d'ADN, générés par coupures aléatoires (enzymatiques ou mécaniques) de l'ADN génomique, sont reliés à des petites molécules d'ADN de séquences connues appelés « adaptateurs ». Les coupures aléatoires génèrent des fragments d'une grande diversité de tailles (entre environ 50 nt et 2000 nt). Une sélection de taille est généralement effectuée pour deux raisons : éliminer les fragments plus courts que la longueur de séquençage, et éliminer les fragments trop longs (d'une taille supérieure à environ 1000 nt). Cette dernière étape est importante pour les techniques de NGS qui nécessitent ensuite une amplification par PCR (*polymerase chain reaction*), qui est moins efficace sur de longs fragments. Notez bien que tandis que dans la Figure 1, une seule molécule d'ADN génomique est montrée, en réalité une banque est faite à partir d'un grand nombre de copies des molécules d'ADN génomique à séquencer.
- Alors que les machines développées pour le projet de séquençage du génome humain n'étaient capables d'effectuer que quelques centaines de réactions de séquençage Sanger en parallèle, les séquenceurs NGS peuvent faire des millions voire des milliards de réactions de séquençage en parallèle.
- Les technologies NGS ne nécessitent pas de séparation des fragments par électrophorèse ; la détection des nucléotides incorporés par la polymérase est faite directement après chaque cycle d'incorporation(36),(40).

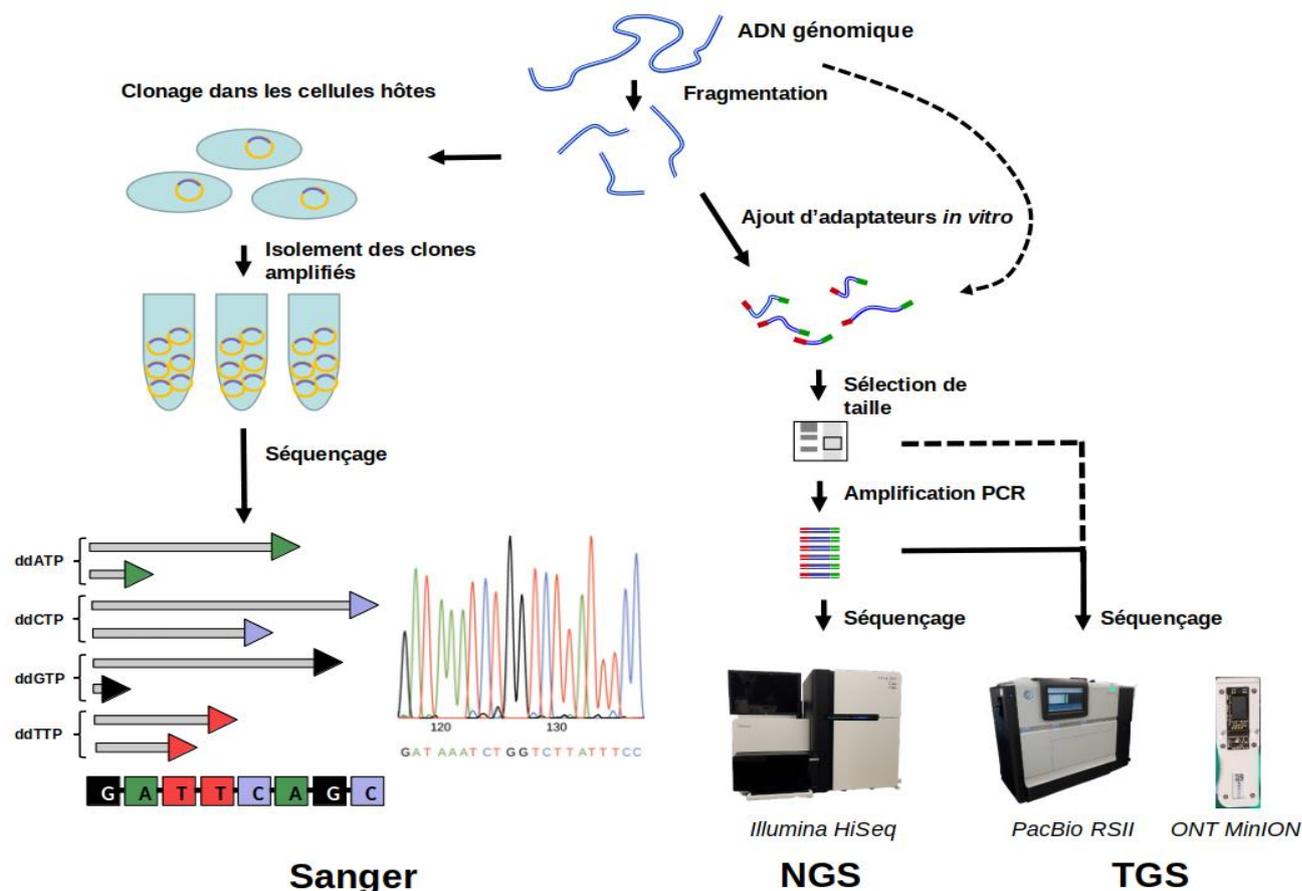


Figure 22: Comparaison des méthodes de séquençage Sanger, de nouvelle génération (NGS, next-generation sequencing) et de troisième génération (TGS, third-generation sequencing) (36)

Les préparations des banques NGS et TGS suivent globalement les mêmes procédures, sauf que pour le TGS les étapes de fragmentation de l'ADN génomique et d'amplification par PCR sont optionnelles (indiqué par flèches interrompues). Les adaptateurs sont indiqués en rouge et vert (36).

### 3.5.3.3. L'apparition des technologies de séquençage *long-read*

Après l'apparition des méthodes NGS, des technologies dites de troisième génération (TGS, third generation sequencing) ou de lectures longues (long read) sont apparues. Elles se caractérisent par le séquençage, en temps réel de molécules uniques. Ces technologies permettent de générer des lectures d'une longueur de plusieurs kilobases voire même des centaines de kilobases. La Figure 22 résume les avantages des technologies long read par rapport au NGS (36).

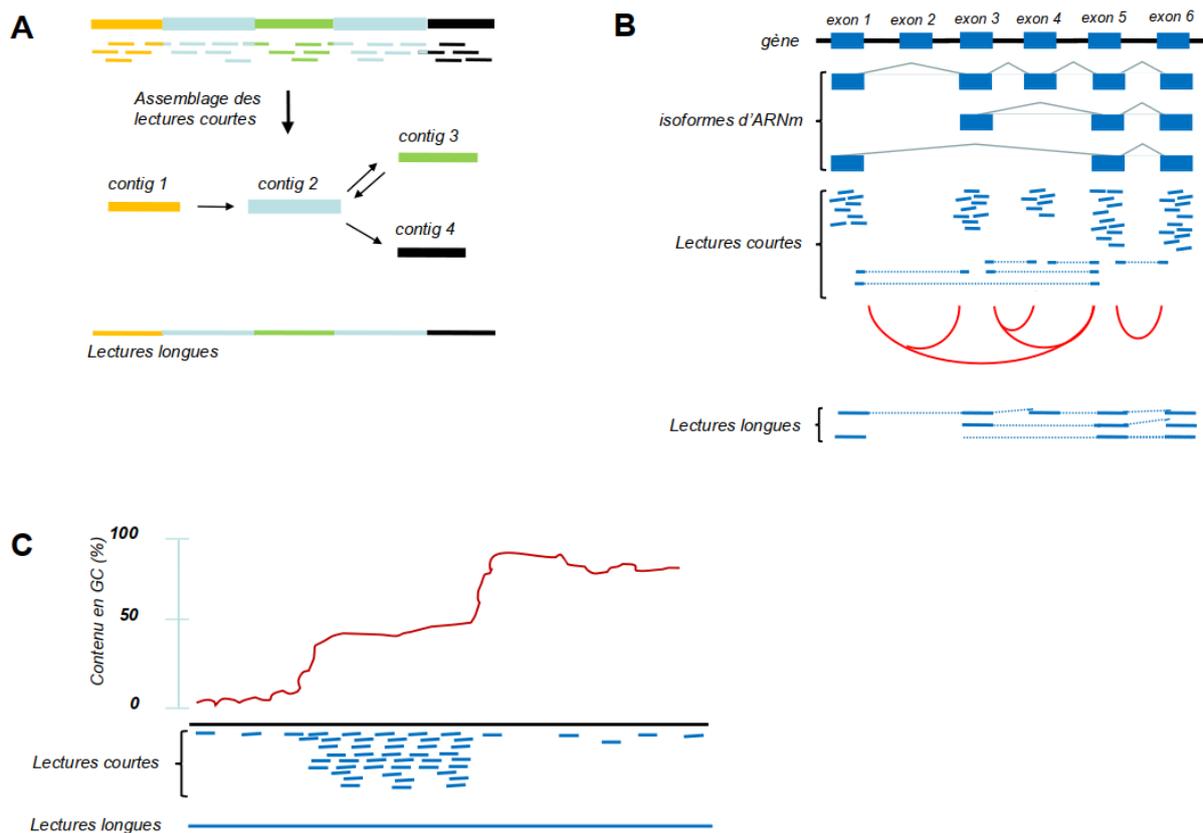


Figure 23 : Comparaison des performances des lectures courtes NGS et des lectures longues TGS (36).

**(A)** Exemple qui montre le problème des régions répétées (en bleu clair) dans un génome, qui ne peuvent être positionnées à des endroits uniques avec des lectures courtes (NGS). Des lectures qui se situent à l'intérieur de ces régions seront assemblées en un seul contig. La région entre les répétitions (vert) peut être placée en amont ou en aval de ce contig bleu (illustré par les flèches en double-sens), ce qui génère une ambiguïté. Par contre, des lectures longues (*long reads*, TGS) qui traversent ces régions répétées ne laissent aucune ambiguïté.

**(B)** Plusieurs transcrits (isoformes) peuvent être générés à partir d'un seul gène par épissage alternatif. Des lectures courtes de ces isoformes donneront des lectures à l'intérieur des exons présents dans le mélange (lignes continues) ainsi que des lectures qui chevauchent les jonctions entre les exons (lignes interrompues). Ainsi, les événements d'épissage alternatif seront détectés ; les jonctions exon-exon détectées dans le mélange sont indiquées par des lignes rouges. Toutefois, les informations concernant les combinaisons des jonctions exon-exon dans les transcrits individuels manquent. Des lectures longues qui couvrent les transcrits entiers fournissent ces informations.

**(C)** Les méthodes NGS dépendent de l'amplification par PCR, ce qui introduit des biais dans des régions pauvres en GC (à gauche de la courbe) ou très

riche en GC (à droite). Par conséquent, ces régions seront peu couvertes. Les technologies de troisième génération PacBio et nanopore n'ont pas besoin de l'amplification PCR et présentent donc beaucoup moins de biais avec ce type de régions (36).

A



B

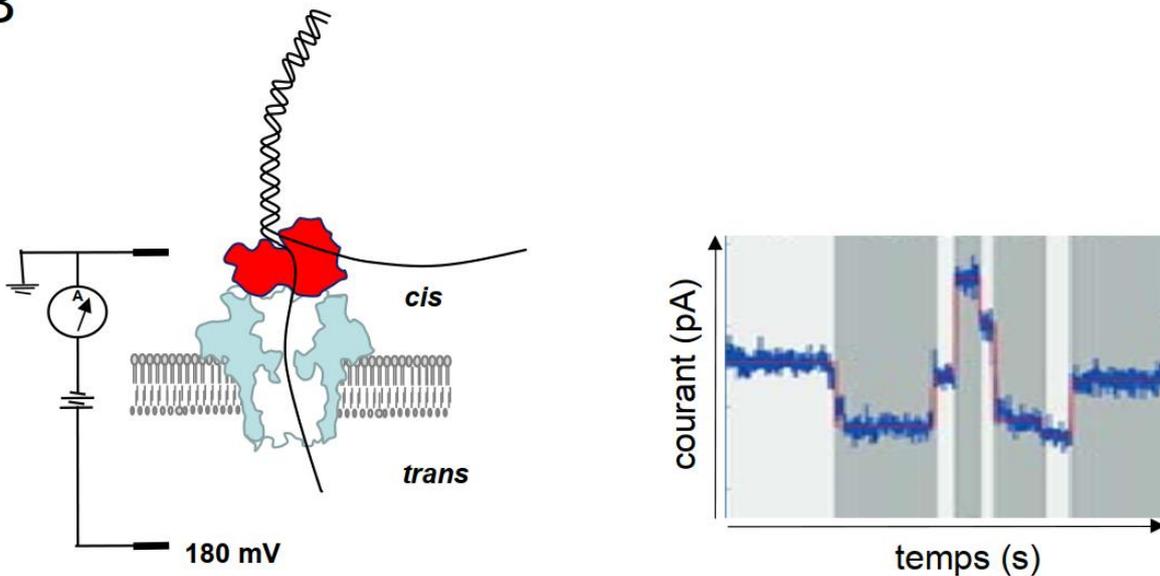


Figure 24 : La technologie nanopore (36).

(A) Dans une banque nanopore, des adaptateurs (en noir) sont attachés aux molécules d'ADN double-brin à séquencer (en bleu), comme pour les banques Illumina. Sur chaque adaptateur, une protéine motrice (rouge) est fixée. (B) Dans une cellule de flux d'Oxford Nanopore Technologies (ONT), deux compartiments (*cis* et *trans*) contenant des solutions ioniques sont séparés par une membrane qui contient des pores ménagés par des protéines. Un acide nucléique (noir) traverse le pore (en bleu) de façon contrôlée grâce à la présence de la protéine motrice (rouge). Avant de traverser le pore, l'acide nucléique est dénaturé par la protéine motrice et ainsi un seul des deux brins traverse le pore. Quand une molécule d'ADN ou d'ARN traverse le pore, le courant électrique est modifié ; celui-ci est enregistré en temps réel et graphiquement représenté par un *squiggle plot* (à droite) (36).

#### **3.5.3.4. Traitement des données de séquençage : le rôle de la bio-informatique.**

Les technologies NGS et TGS ont nécessité le développement d'outils de bio-informatique spécifiques, capables d'analyser les données générées par les différentes méthodes. Un grand nombre d'algorithmes capables de gérer des lectures courtes NGS ainsi que des algorithmes permettant l'assemblage de génomes *de novo*, la détection des polymorphismes mononucléotidiques (SNP), l'analyse ChIP-seq et RNA-seq ont été développés. Des programmes corrigeant les biais introduits pendant la préparation des banques ont également été mis au point. L'ensemble des améliorations expérimentales et algorithmiques ont fortement renforcé l'utilité des technologies NGS. L'apparition des technologies de troisième génération a également nécessité le développement d'outils adaptés permettant de gérer des lectures (très) longues et des taux d'erreurs élevés (36).

#### **3.6. Prise en charge de la maladie**

Plusieurs médicaments ont été étudiés ou font actuellement l'objet d'essais cliniques pour évaluer leur sécurité et leur efficacité en tant qu'agents potentiels pour la prophylaxie pharmaceutique ou le traitement de COVID-19, inclus les corticostéroïdes, l'analogue nucléotidique antiviral remdesivir, les interférons systémiques, les anticorps monoclonaux contre les composants du système immunitaires tels que l'interleukine-6, d'autres modulateurs immunitaires et les anticorps monoclonaux contre les composants du SRAS-CoV-2. Les essais cliniques d'interventions thérapeutiques pour COVID-19 se sont concentrés sur des patients adultes, et donc des données limitées existent sur le traitement de COVID-19 chez les enfants.

Les traitements potentiels doivent être soigneusement évalués dans des essais contrôlés randomisés. En 2020, plusieurs essais multicentriques à grande échelle ont été organisés en utilisant une méthodologie suffisamment robuste pour l'évaluation des thérapies potentielles. Y compris l'essai de solidarité de l'OMS, plusieurs études des National Institutes of Health (NIH) des États-Unis, ainsi que des études internationales et nationales(41).

Selon le ministère de la santé au Mali la prise en charge de la maladie COVID-19 se fait en fonction de la gravité :

Cependant, en l'absence de traitement prouvé efficace contre le COVID-19, au regard de la pratique de plusieurs pays de la sous-région et des recommandations de l'organisation ouest africaine de la santé (OOAS) sur l'utilisation de l'Hydroxychloroquine (HCQ) ou de la

chloroquine dans la prise en charge des cas de COVID-19 dans les centres hospitaliers, le Mali a adopté l'introduction de ces deux molécules dans le protocole de traitement de COVID-19(42)

➤ **Cas de COVID-19 simple :**

Absence de difficulté respiratoire

Absence de comorbidités (insuffisance respiratoire, bronchopathies chroniques obstructives BPCO, insuffisance cardiaque, Asthme, insuffisance rénale, infection à VIH, Hépatite virale B et C, diabète, obésité...)

Absence de traitement immunosuppresseur, corticothérapie, anti-cancéreux

**Protocole :**

Paracétamol 500 mg comprimé toutes les 6 heures sans dépasser 4 g/24H.

Apports hydriques et nutritionnels normaux

Phosphate de chloroquine 100 mg 2 comprimés toutes les 8h pendant 10jours

Azithromycine comprimé :

500 mg en dose unique le 1<sup>er</sup> jour

250mg par jour du 2<sup>ème</sup> au 4<sup>ème</sup> jour

➤ **Cas sévères chez les adultes :**

Polypnée (fréquence respiratoire > 30/min)

Saturation en oxygène (SpO<sub>2</sub>) < 92% en air ambiant

Pression artérielle systolique < 90 mm Hg

Signes d'altération de la conscience, confusion, somnolence

Signes de déshydratation

**Présence de comorbidités** (Insuffisance respiratoire, BPCO, insuffisance cardiaque, Asthme, Insuffisance rénale, infection à VIH, Hépatite virale B et C, diabète, obésité...)

Traitement immunosuppresseur, corticothérapie, traitement anti-cancéreux en cours

➤ **Cas sévères chez les enfants :**

Saturation en oxygène (< 92%)

Détresse respiratoire sévère (battement des ailes du nez, tirage intercostal, Entonnoir xiphoidien, balancement thoraco-abdominal...)

Signes d'encéphalopathie (agitation, convulsion, coma...)

État de choc (TRC<3 secondes, pouls filant, extrémités froides)

Insuffisance rénale (oligurie, anurie)

Insuffisance cardiaque (orthopnée, dyspnée, tachycardie, souffle...)

CIVD (saignements anormaux...)

**Protocole :**

Oxygénothérapie : Lunette nasale ou Masque avec 3 à 4 l/min

Paracétamol 1 g en perfusion toutes les 6 heures sans dépasser 4 g/24H.

**Phosphate de chloroquine 100 mg** 2 comprimés toutes les 8h pendant 10 jours

**Azithromycine :**

- 500 mg en dose unique le 1<sup>er</sup> jour
- 250mg par jour du 2<sup>ème</sup> au 4<sup>ème</sup> jour

Thromboprophylaxie : Enoxaparine 0,4 UI/24h

Repos au lit

Apport hydro-électrolytique et Nutritionnel,

Monitoring clinique (Cardioscope, SPO2, TA, Diurèse, Température),

Examens complémentaires : Biologie (NFS, Urée, créatinine, ASAT, ALAT, Bilirubine, TP-TCA, Troponine, Gazométrie Artérielle, lactatémie,) et

Radiologique (Rx thorax, échographie pulmonaire, TDM thoracique C+)

**Pour les enfants :**

Traitement de la fièvre avec du paracétamol 60 mg/kg/jour en 4 prises

Désinfection rhinopharyngée avec du sérum physiologique

Apports hydriques et nutritionnels adaptés à l'âge

Zinc : 10 mg par jour par voie orale

Le traitement se justifie en cas d'apparition de symptômes modérés ou sévères

Antibiotique à large spectre en IV.

**Phosphate de Chloroquine** : voie orale : 10 mg/kg/jour en 2 prises (toutes les 12 heures) pendant 10 jours

**3.7. La mode Prévention :**

**3.7.1. Les mesures barrières**

Il existe un certain nombre de mesures efficace pour prévenir l'infection à SRAS-CoV-2 :

- Se laver les mains régulièrement (eau + savon) ou utilisez une solution hydro alcoolique.
- Tousser ou éternuer dans votre coude, ou dans un mouchoir.
- Eviter de se toucher le visage.
- Utiliser des mouchoirs à usage unique (et les jeter à la poubelle après le premier usage).
- Saluer sans serrer la main, sans embrassades.
- Conserver une distance d'au moins 1.5 mètre avec tout interlocuteur.
- Bien aérer les pièces.

En l'absence de traitement, la meilleure des protections pour vous et pour vos proches est, en permanence, le respect des mesures barrières et de la distanciation physique. En complément, portez un masque quand la distance d'un mètre ne peut pas être respectée(24).

➤ **Les équipements de protection individuelle EPI pour les agents de la santé :**

Selon OMS et Center for Disease Control (CDC) (les centres pour le contrôle et la prévention des maladies forment ensemble la principale agence fédérale des Etats-Unis en matière de protection de la santé publique) :

- protection respiratoire : masques respiratoires filtrants (FFP), masques faciaux (masques chirurgicaux) ;
- protection des yeux : lunettes de protection ou écrans faciaux et doivent être compatibles avec le respirateur ;
- protection du corps : blouses imperméables à manches longues ; si des blouses résistantes à l'eau ne sont pas disponibles, un tablier en plastique à usage unique porté par-dessus la blouse non résistante à l'eau peut être utilisé ;
- protection des mains : des gants doivent être utilisés lors de la prise en charge des patients suspectés ou confirmés de COVID-19(43).

### **3.7.2. Vaccins :**

Les vaccins contre COVID-19 classent selon leurs compositions :

**COVID-19 ARNm**, Deux vaccins inactivés à ARN messenger contre la COVID-19 : Spikevax (Moderna) et Comirnaty (Pfizer-BioNTech). Ces vaccins sont à base d'ARN messenger hautement purifié qui encode la protéine S du virus SRAS-CoV-2, responsable de la COVID-19. L'ARN messenger est entouré de particules lipidiques (44).

**COVID-19 PRA** (protéine recombinante avec adjuvant), Deux vaccins inactivés à protéine recombinante avec adjuvant contre la COVID-19 : Covifenz (Medicago) et Nuvaxovid (Novavax) (45).

Le Covifenz est préparé avec la protéine S du virus responsable de la COVID-19, le SRAS-CoV-2, à laquelle est ajouté l'adjuvant AS03. La protéine S est produite par recombinaison génétique à l'aide de feuilles de tabac (*Nicotiana benthamiana*, variété différente du tabac commercial) et d'une bactérie (*Agrobacterium tumefaciens*). Les protéines S s'auto-assemblent pour former des particules pseudo-virales.

Le Nuvaxovid est préparé avec la protéine S du virus responsable de la COVID-19, le SRAS-CoV-2, à laquelle est ajouté l'adjuvant Matrix-M. La protéine S est produite par la technique de l'ADN recombinant à l'aide d'un vecteur d'expression du baculovirus dans une lignée cellulaire dérivée des cellules Sf9 de l'espèce *Spodoptera frugiperda* (45).

**COVID-19 VV**( vecteur viral), Trois vaccins inactivés à vecteur viral contre la COVID-19 : Vaxzevria (AstraZeneca); Covishield (SII); JAN COVID-19 (Janssen) (46).

Les vaccins Vaxzevria et Covishield sont fabriqués selon la même technologie, car AstraZeneca a transféré sa technologie au SII. L'immunogénicité et l'innocuité des 2 produits sont jugés comparables par Santé Canada. Les vaccins Vaxzevria et Covishield utilisent un adénovirus simien non pathogène pour l'humain et non répliatif, qui a été modifié pour encoder la protéine S du virus SRAS-CoV-2, responsable de la COVID-19. L'adénovirus a été cultivé sur des cellules rénales humaines.

Le vaccin JAN COVID-19 utilise un adénovirus humain non répliatif, qui a été modifié pour encoder la protéine S du virus SRAS-CoV-2, responsable de la COVID-19. L'adénovirus a été cultivé sur des cellules rétiniennes humaines (46).

**Tableau 2** : La liste des vaccins homologués par l'OMS

<b>Commirnaty</b>	9 octobre 2020
<b>Vaccin moderne COVID-19</b>	21 novembre 2020
<b>Vaxzevria</b>	4 novembre 2020
<b>Vaccin COVID-19 Janssen</b>	22 janvier 2021
Le Pfizer-BioNtech	31 décembre 2020
Les deux sérums Astra Zeneca fabriqués en inde et en Corée du sud	15 février 2021
Le sérum de Johnson et Johnson, appelé janssen	12 mars 2021

Le vaccin de moderna	30avril 2021
Le vaccin Sinopharm	7 mai 2021
Sinovac-Corona vac	1 juin 2021

#### **4. MATERIELS ET METHODE :**

##### **4.1. Cadre et lieu :**

Notre travail s'est déroulé sur plusieurs sites dans deux pays. Au Mali, il s'est déroulé au laboratoire du Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) de l'université des sciences des techniques et des technologies de Bamako (USTTB) Mali, au CHU du Point G et à l'Hôpital du Mali. En Guinée tous les patients ont été recrutés au CHU de l'Hôpital National Donka de Conakry.

##### **- Volet laboratoire :**

##### **Le Centre Universitaire de Recherche Clinique**

Le Centre Universitaire de Recherche Clinique (UCRC) a été créé en 2013 à travers un partenariat entre le ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche scientifique, le ministère de la santé et de l'hygiène publique du Mali, l'université des sciences, des techniques et des technologies de Bamako (USTTB), et les instituts Nationaux de la santé (NIH), Bethesda, maryland aux Etats-Unis. Le centre est situé au CHU du Point G de Bamako, Mali.

L'UCRC a pour but d'améliorer les infrastructures et les ressources nécessaires pour faciliter la recherche clinique au Mali. L'UCRC fournit des services de base de données cliniques et dans le diagnostic médical. Il aide également les investigateurs dans la conception et la mise en œuvre des protocoles de recherche clinique

##### **➤ Mission**

La mission de l'UCRC est d'améliorer continuellement la qualité des soins de santé à l'échelle nationale, régionale et mondiale en facilitant l'excellence dans la recherche clinique selon les normes internationales tout en renforçant la capacité de formation et de recherche. Ce partenariat vise à :

- Faciliter le développement d'un programme de recherche clinique coordonné au Mali ;

- Améliorer les programmes existants de recherche clinique et faciliter leur croissance ainsi que leur durabilité ;
- Stimuler la recherche clinique en Afrique de l'Ouest selon des normes et principes internationaux ;
- Développer un excellent environnement de recherche qui facilitera les collaborations et attirera les meilleurs chercheurs du monde entier

➤ **Infrastructures et équipements**

L'UCRC est doté d'un volet laboratoire s'appuyant sur quatre 4 principaux laboratoires et d'un volet clinique au centre Hospitalier Universitaire (CHU) du point G de Bamako.

➤ **Le laboratoire Core Immunologie**

Le core immunologie est un laboratoire de dernière génération qui soutient des études complexes visant à mieux comprendre le système immunitaire de l'homme et la pathogénie de la maladie,

Ce laboratoire dispose des équipements modernes pour mesurer les taux de CD4, la charge virale du VIH.

En plus de ces derniers, les cytomètres de flux sophistiqués nous permettent d'initier des tests immunologiques complexes.

➤ **Laboratoire d'hématologie et de biochimie**

Les essais cliniques sont conduits dans ce laboratoire doté d'automates pour l'analyse des paramètres hématologiques et biochimiques.

➤ **Laboratoire de niveau de sécurité 3 « BSL3 »**

Le laboratoire de niveau de sécurité 3 a été construit sur des critères du NIH permettant de manipuler en toute sécurité les agents bactériologiques et virologiques dangereux. En 2006, le P3 a reçu la certification de l'OMS, représentant le premier laboratoire P3 certifié au Mali.

➤ **Laboratoire de biologie moléculaire**

Le laboratoire de biologie moléculaire est doté de plusieurs appareils de PCR permettant de faire le génotypage des mycobactéries, des virus des fièvres hémorragiques.

➤ **L'UCRC et les technologies de l'information et de la communication.**

Les laboratoires UCRC sont équipés en ordinateurs connectés à internet via un satellite (V-SAT) qui assure la connexion directe avec le NIH des Etats unis. Le monitoring des réfrigérateurs, des congélateurs et des incubateurs se fait selon un SMS. Deux groupes électrogènes (de 110 KVA) sont installés pour pallier les éventuelles coupures d'électricité.

➤ **Collaboration sur le plan clinique**

L'UCRC travaille en collaboration avec le centre hospitalo-universitaire (CHU) du point G et ARCAD/SIDA-CESAC. Nous travaillons également avec les Centres de Santé de Référence (CSRéf) des six communes du district de Bamako. Le programme ne fournit pas de soins de santé primaire. Cependant les participants volontaires à nos études de recherche bénéficient gratuitement de tous les tests cliniques, biologiques et radiologiques au cours de nos activités de recherche. Tous nos protocoles cliniques sont approuvés par les comités d'éthiques Malien et Américain, conférant un caractère crédible et solide aux études menées par les équipes d'UCRC.

L'UCRC offre également des infrastructures pour la conservation des données et des échantillons biologiques avec un personnel bien formé à de multiples techniques de laboratoire y compris le traitement des échantillons des essais cliniques, la pharmacie, la collecte et la gestion des données, ainsi que l'appui aux aspects réglementaires de la recherche clinique, entre autres.

➤ **Le personnel**

L'équipe UCRC est composée de chercheurs (médecins, pharmaciens, biologistes, techniciens, anthropologues et administrateurs) du Mali et des Etats Unis d'Amérique engagés pour l'amélioration des soins et l'avancement de la biomédicale.

➤ **Projet de recherche**

L'UCRC permet aux chercheurs d'utiliser le savoir, l'expertise et des ressources afin de tester et de développer de nouveaux outils de diagnostic de traitement et de prévention selon les normes internationales afin d'améliorer la qualité des soins de santé. Le centre offre aussi aux jeunes investigateurs l'opportunité d'une formation de qualité en recherche biomédicale et clinique. L'UCRC contribue au développement de collaboration au niveau local, national et international pour assurer la durabilité des infrastructures de recherche.

- **Volet clinique :**

**L'hôpital du point G** a été construit en 1913 sur une superficie de 25 hectares et était administré par des médecins militaires français jusqu'à 1958. Aujourd'hui l'hôpital du point G est la plus grande formation sanitaire du Mali et est la dernière référence.

Géographiquement l'hôpital du point G est situé au nord de la ville de Bamako à 8 km du centre-ville, face à la colline de Koulouba et il reçoit beaucoup de parturientes référées.

**L'Hôpital du Mali**, inauguré le 23 septembre 2010 sur une superficie de 20 hectares par le président de la République son excellence Monsieur Amadou Toumani Touré avec l'aide de la république populaire de Chine. Il est situé sur la rive droite du fleuve Niger à Yirimadio.

**L'Hôpital National Donka CHU Conakry**, il est situé au nord-est de la grande mosquée de Conakry et en face le camp Boiro séparé par la route le prince. C'est le plus grand hôpital public du pays, construit en 1959 juste après l'indépendance avec l'aide de l'union soviétique.

#### **4.2. Période de l'étude**

Notre étude s'est déroulée d'Août 2020 à février 2022 dans l'UCRC

#### **4.3. Type d'étude**

Une étude descriptive transversale portant sur les patients présentant la COVID-19.

#### **4.4. Population d'étude**

Les cas confirmés de COVID-19 (par RT-PCR) avant le début du traitement, admis aux centres de prise en charge à Bamako, Mali et Conakry en Guinée.

#### **4.5. Echantillonnage**

##### **4.5.1. Critères d'inclusion :**

Être âgée de 16 ans et plus

Patients avec COVID-19 confirmé par RT-PCR

Volonté et capacité de donner un consentement éclairé (ou par le représentant légal)

Volonté de conserver les échantillons pour de futures études

#### **4.5.2. Critères de non-inclusion :**

Être âgée de moins de 16 an

#### **4.6. Considérations éthiques :**

##### **4.6.1. Le comité éthique**

Notre étude « **Caractérisation Virologique de la Pandémie à COVID-19 au Mali et en Guinée** » a été soumise au comité d'éthique et au comité scientifique approuvée sous le **No\_2020/193/CE/FMOS/FAPH** le 09 septembre 2020, dans l'intérêt de retrouver une solution à la pandémie de COVID-19.

##### **4.6.2. Sensibilisation et consentement des patients**

Le formulaire de consentement éclairé a été expliqué à chaque volontaire avec une description en français de toutes les procédures de l'étude avant l'enrôlement. Ceux-ci comprenaient les procédures et leurs buts, les possibles effets néfastes, les désagréments et les risques ainsi que les avantages potentiels liés à l'étude. Les volontaires ont la possibilité de poser des questions, d'accepter ou pas le consentement ou d'arrêter à tout moment leur participation à l'étude et cela sans aucun préjudice. Le volontaire devrait nécessairement donner son consentement en signant le formulaire pour pouvoir participer à l'étude. Une copie du consentement éclairé a été toujours remise au volontaire.

#### **4.7. Déroulement du travail**

Le personnel respectait aussi toutes les autres précautions universelles de biosécurité.

##### **4.7.1. Prélèvement et les caractéristiques cliniques**

Tous les patients positifs au test de COVID-19 ont reçu un premier conseil de la part des investigateurs et ont été orientés vers les médecins traitants.

Les 200 premiers cas positifs volontaires après le début de l'étude ont été consécutivement inclus dans l'étude. Les éléments suivants ont été obtenus des participants au cours d'une seule visite d'étude :

1. un écouvillon nasopharyngé ou oropharyngé a été obtenu pour RT-PCR et le séquençage du génome SRAS-CoV-2 ;
2. enquête (voir tableau ci-dessous). L'enquête a été programmée dans REDCap ;

3. un examen physique a été également effectué par des médecins au niveau des sites et les signes généraux ont été recueillis (voir le **tableau 4** : Présentation clinique).

**Tableau 3** : domaines et variables de l'enquête

<b>Données démographiques</b>	Générales	Date de naissance, sexe, race, origine ethnique, profession, adresse, état civil, date de décès
	Le cadre de vie	Lieu de vie, nombre de personnes dans le ménage
<b>Facteurs de risque au COVID-19</b>	Voyage	Mode de voyage, historique des voyages, dates de voyage
	Conditions de santé sous-jacentes	Maladies cardiaques, diabète, affections pulmonaires, y compris asthme, cancer et statut immunitaire, autres affections immunologiques
<b>Caractéristiques du COVID-19</b>	Symptômes du COVID-19	Fièvre, toux, dyspnée, myalgie, malaise, frissons, arthralgie, rhinorrhée/congestion nasale, mal de gorge, douleur thoracique, maux de tête, vomissements, diarrhée, anosmie, agueusie
	Début des symptômes	Date et description
	Présentation clinique	Température, fréquence cardiaque, fréquence respiratoire, tension artérielle systolique, tension artérielle diastolique et SpO2

#### 4.7.2. Condition de transport des échantillons :

- Les tubes ont été Identifiés par ordre de prélèvement (avec étiquette COV-RV-001 à COV-RV-200) ;
- Les tubes ont été placés dans un sac avec les bulletins de prélèvement, après dans un portoire contenant un papier absorbant permettant de les garder verticalement ;
- Ensuite le portoire a été placé dans une thermoscie avec inscription COVID +.
- Puis amener au laboratoire.

### 4.7.3. Au laboratoire :

Dans BSL3 (laboratoire de risque 3)

- Les échantillons ont été aliquotés dans des cryotubes de 1.5ml ;
- Puis conserver à -80 °C avant leur envoi pour le séquençage.

### 4.8. Séquençage du génome entier

Des efforts ont été déployés pour collecter l'échantillon et le stocker pour le séquençage du génome entier à Chicago. Une analyse bio-informatique a été effectuée également à Chicago et comparaison entre les structures génomiques des isolats du SRAS-CoV2 du Mali et de la Guinée avec d'autres souches en Afrique, en Chine, aux États-Unis et en Europe.

#### ➤ Détermination de la charge virale

L'ARN viral a été extrait d'échantillons nasopharyngés à l'aide du QIAamp Viral RNA Minikit (Qiagen, n° de catalogue 52906). Les tests de laboratoire pour la présence du SRAS-CoV-2 ont été effectués par transcription inverse quantitative et PCR (qRT-PCR) avec le panneau de diagnostic CDC 2019-nCoV RT-PCR utilisant des sondes N1 et RNase P pour la qualité de l'échantillon contrôle comme décrit précédemment (IDT, cat. n°10006713). Tous les échantillons avec des niveaux de RNaseP indétectables étaient de qualité insuffisante et ont été exclus des futures études. Les valeurs Ct des sondes N1 ont été utilisées dans toutes les analyses ultérieures avec des valeurs Ct N1 inférieures ou égales à 35 considérées comme positives.

#### ➤ Synthèse d'ADNc et amplification du génome viral

La synthèse d'ADNc a été réalisée avec le kit de synthèse SuperScript IV First Strand (Thermo Fisher, n° de catalogue 18091050) en utilisant 11ul d'acides nucléiques viraux et des amorces hexamères aléatoires conformément aux spécifications du fabricant. L'amplification directe de l'ADNc du génome viral a été réalisée dans des réactions de PCR multiplexées pour générer environ 400 amplicons de paires de bases répartis sur le génome. L'ensemble d'amorces multiplex, composé de deux pools d'amorces qui ne se chevauchent pas, a été créé à l'aide de Primal Scheme et fourni par Artic Network (version 3). L'amplification par PCR a été réalisée en utilisant la Q5 Hot Start HF Taq Polymérase (NEB, n° cat.M0493L) avec 5µl d'ADNc dans un volume réactionnel de 25µl. Un programme de PCR en deux étapes a été utilisé avec une étape initiale de 98°C pendant 30 secondes, puis 35 cycles de 98°C pendant

15 seconds suivis de cinq minutes à 65°C. Des réactions séparées ont été réalisées pour chaque pool d'amorces et validées par électrophorèse sur gel d'agarose. Chaque ensemble de réaction comprenait des contrôles d'amplification positifs et négatifs et a été réalisé dans un espace physiquement séparé pour les étapes de traitement pré-et post-PCR afin de réduire la contamination. Les ensembles d'amplicons pour chaque génome ont été regroupés avant la préparation de la banque de séquençage.

➤ **Préparation de banques ADN de séquençage et séquençage d'Illumina**

Des amplicons des deux pools d'amorces ont été combinés et purifiés avec un volume 1x de billes AmpureXP (Beckman Coulter). Un total de 75 ng d'ADN a été traité avec le mélange enzymatique KAPA HyperPrep End Prep (KAPA). Ainsi 96 banques d'échantillons ont été codées à l'aide de codes à barres NEXTflex et de KAPA HyperPrep DNA Ligase (KAPA) pour un séquençage simultané. Des échantillons à code-barres uniques ont été regroupés et purifiés avec un volume de 0,8x de billes AmpureXP. L'amplification de banques a été réalisée en utilisant KAPA HiFi HotStart avec les amorces KAPA Library Amp. Les amplicons ont été purifiés avec un volume de 0,8x de billes AmpureXP et normalisés à 5 nM et regroupés. La banque regroupée a été dénaturée et chargée sur une Flow Cell MiSeq v2 500 cycles (Illumina). Les séquences consensus du génome viral ont été déterminées à partir des lectures de séquençage comme décrit précédemment(47). Les lectures de séquençage ont été alignées sur la séquence du génome de référence du SRAS-CoV-2 (accession MN908947.3) à l'aide de la version 0.7.15 de bwa. Les séquences de codes-barres ont été découpées à partir des lectures alignées et de la séquence consensus déterminée à l'aide d'iVar v1.2.2 69 avec une profondeur d'alignement minimale de 10 lectures et une qualité de base minimale de 20, et un seuil de fréquence de consensus de 0 (c'est-à-dire, la base majoritaire comme consensus). Les séquences consensus avec  $\geq 10$  % de bases manquantes ont été rejetée.

#### **4.9. Saisie et analyse des données**

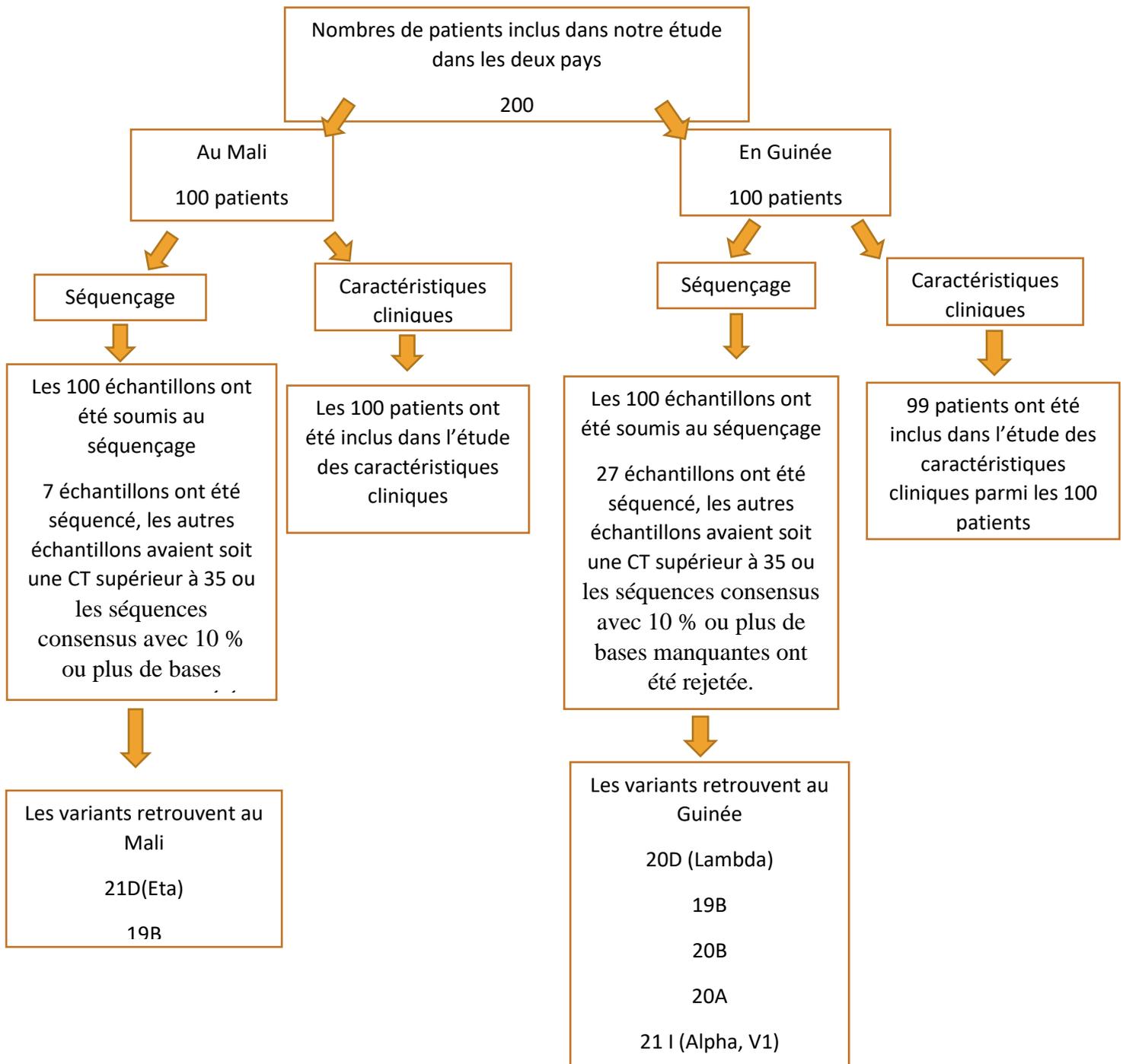
Les données ont été saisies dans le logiciel REDCap et l'extraction de ces données a été faite par le logiciel Excel.

L'analyse des données a été réalisée par logiciel SPSS 28.0.0.0 et logiciel Prisme 9.3.1 (san Diego, CA, USA).

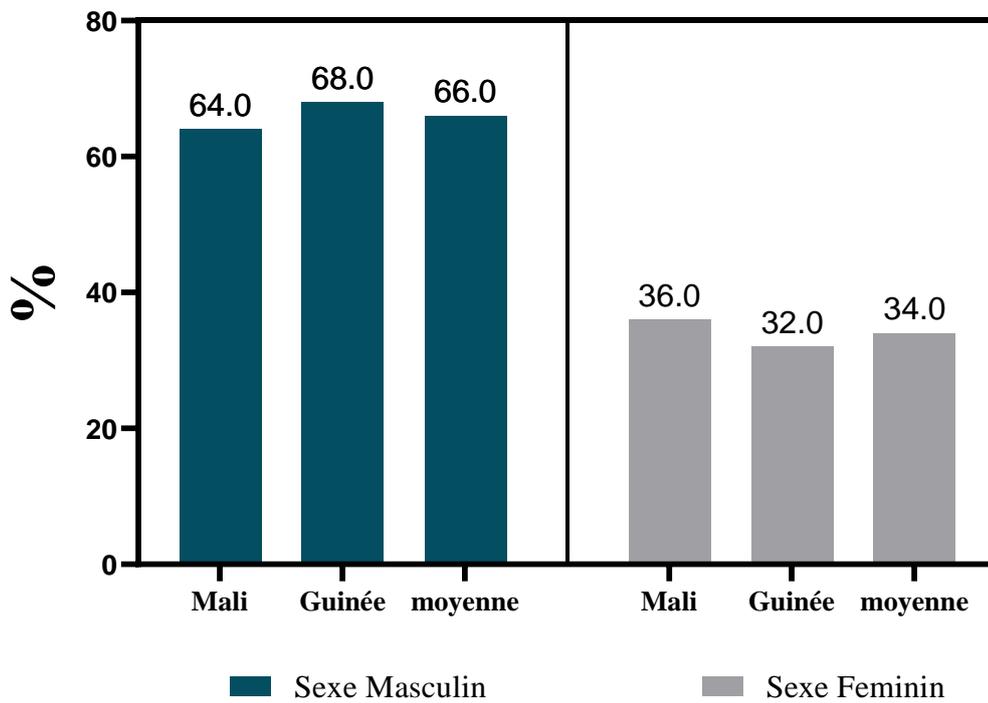
## 5. RESULTATS

Dans notre étude, 200 patients ont été inclus dont 100 patients pour le Mali et 100 patients pour la Guinée. Nous nous sommes basés sur certaines parties essentielle dans l'analyse des résultats obtenus (un patient a été exclu en Guinée), qui seront nécessaires pour la prise en charge de la maladie comme les comorbidités, les symptômes les plus fréquents, connaître les groupes de personnes à risque, afin d'améliorer le traitement.

Pour l'étude virologique, les 200 patients ont été tous inclus. Cette étude virologique nous a permis de savoir les variants circulant dans les deux pays.



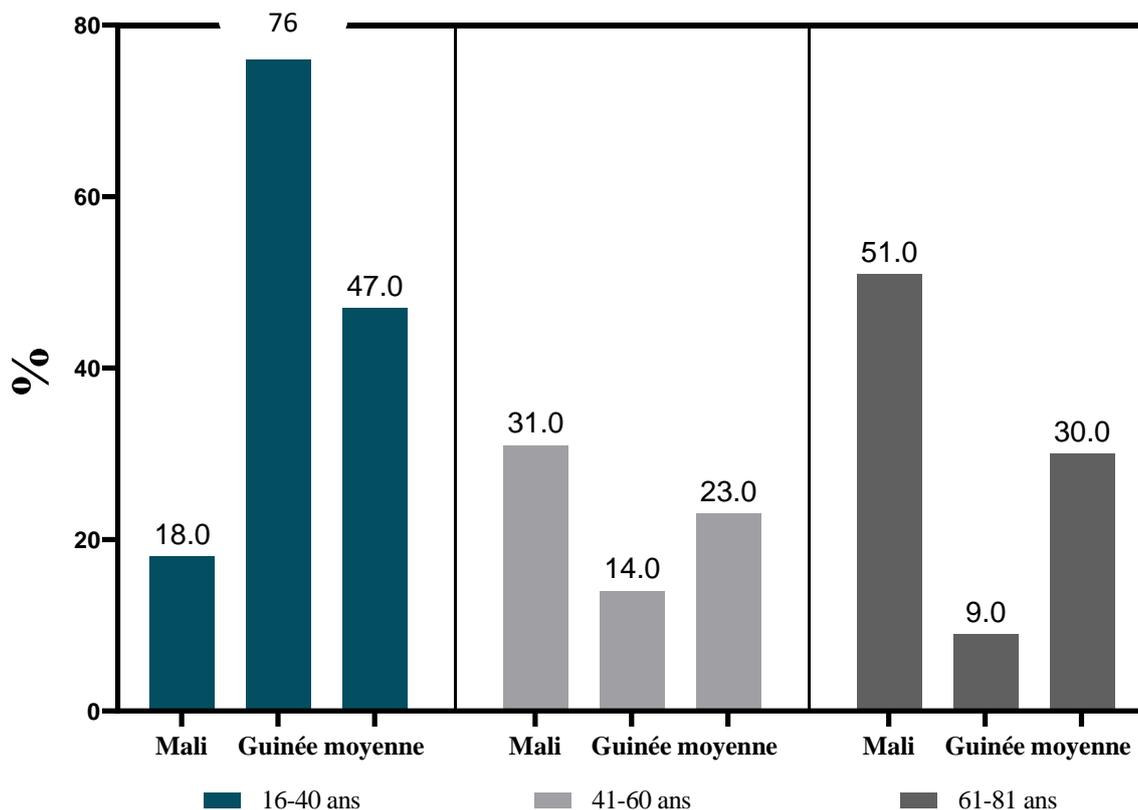
## 5.1. Caractéristiques socio-démographiques



**Figure 25:** la répartition des patients en fonction du sexe.

Dans notre étude le sexe masculin représentait en moyenne 66% et le sexe féminin 34% avec un ratio de 1,92 en faveur des hommes.

Au Mali le sexe masculin représentait 64% et le sexe féminin 36%. En Guinée le sexe masculin représentait 68% et le sexe féminin 32%.



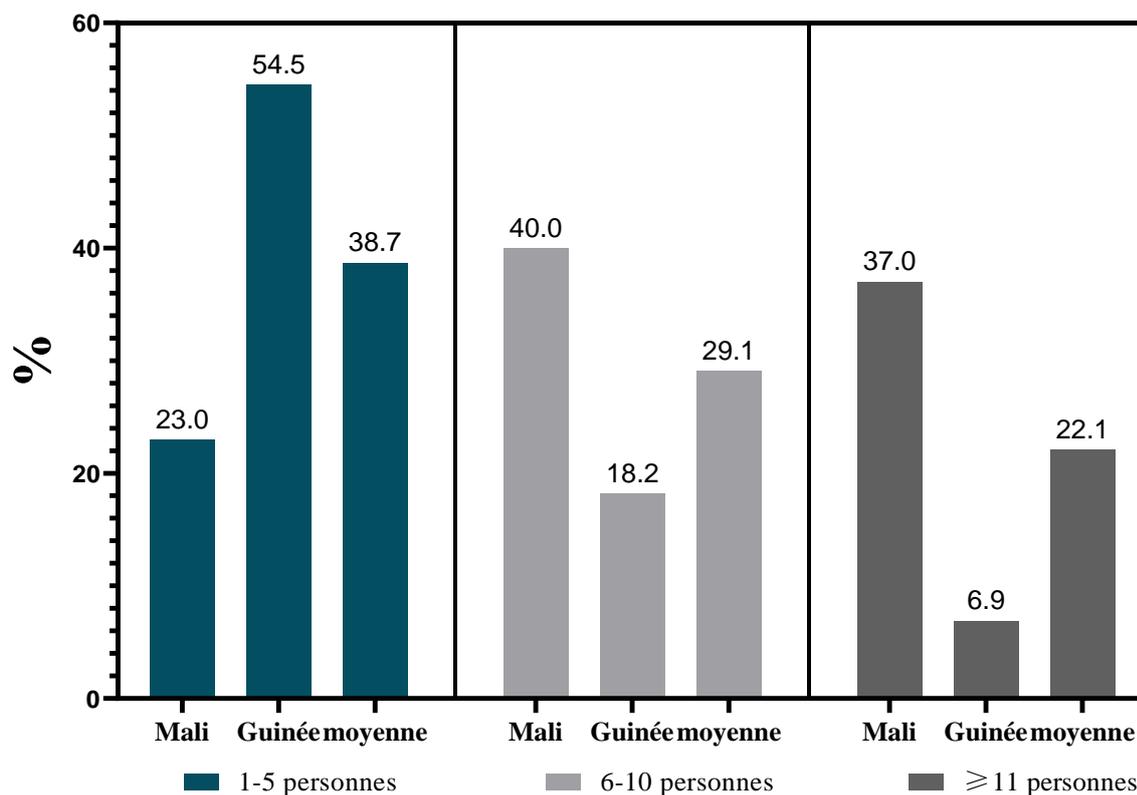
**Figure 26:** la répartition des patients en fonction des tranches d'âge (année).

Dans notre étude la tranche d'âge la plus majoritaire était de [16-40 ans], qui représentaient en moyenne 47% et 30% en moyenne était de tranche d'âgées  $[\geq 61]$  ans].

Au Mali, l'intervalle d'âge était [18-81ans]. La tranche d'âgées  $[\geq 61]$  ans] représentaient 51% et la tranche de [18-40ans] représentaient 18%.

En Guinée, l'intervalle d'âge était [16-74 ans], la tranche [16-40 ans] représentaient 76% et la tranche  $[\geq 61]$  ans] représentaient 9%.

Dans les deux pays, il y'avait une très grande variation entre les tranches d'âge avec 51% de tranche d'âgée  $[\geq 61]$  ans] inclus au Mali et contrairement en Guinée 76% des patients inclus étaient de tranche d'âge [16-40 ans].



**Figure 27:** la répartition des patients en fonction de nombre de personnes vivants avec le patient

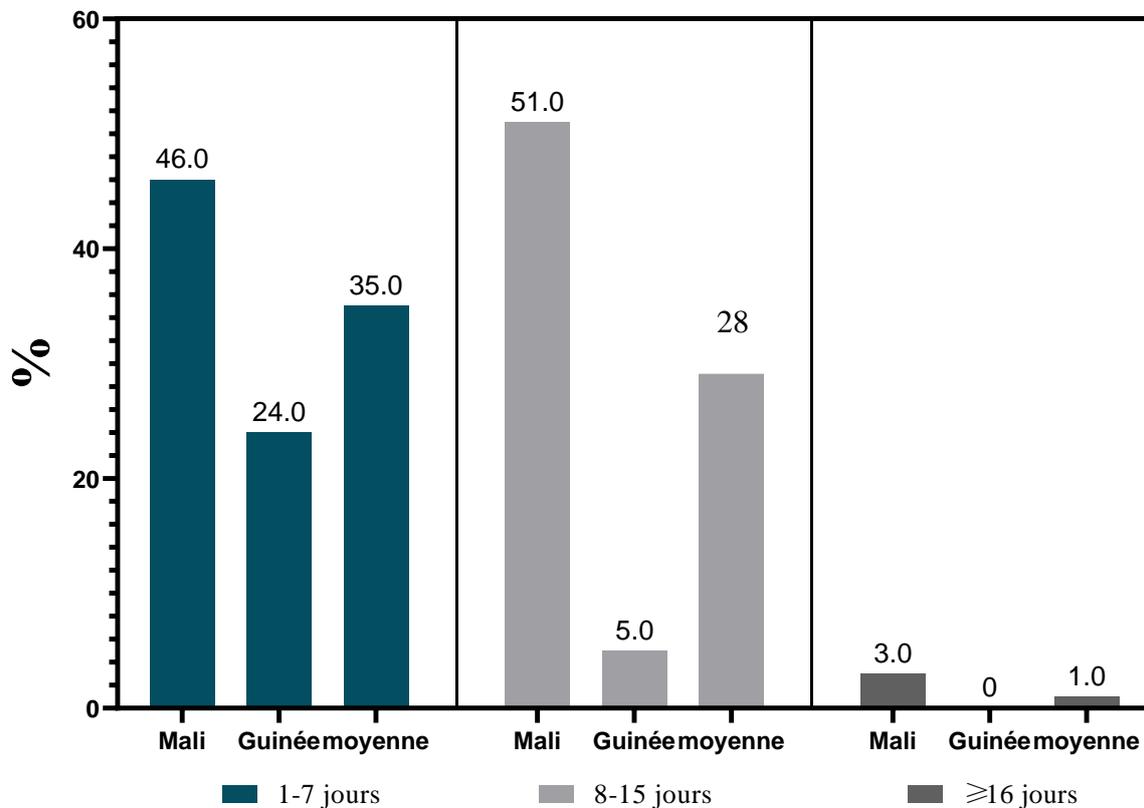
Dans notre étude les patients qui vivaient avec 1-5 personnes dans la même concession représentait en moyen 38,7% et 29,1% en moyenne des patients vivaient avec 6-10 personnes dans la même concession.

Au Mali les patients qui vivaient avec 6-10 personnes représente 40% et 35% avec 11-20 personnes dans la même concession.

En Guinée 54,5% des patients vivaient avec 1-5 personnes et 18,2% avec 6-10 personnes dans la même concession.

## 5.2. Caractéristiques cliniques

### ➤ Délai entre admission et l'apparition des premiers symptômes



**Figure 28:** Délai entre admission et l'apparition des premiers symptômes.

En moyenne 35% des patients de notre étude ont été diagnostiqués positifs dans la première semaine d'apparition de leurs symptômes et 28% en moyen ont été diagnostiqués positifs dans la deuxième semaine d'apparition de leurs premiers symptômes.

Au Mali 51% des patients ont été diagnostiqués positifs dans la deuxième semaine d'apparition des symptômes et 46% dans la première semaine d'apparition des symptômes.

En Guinée 70% des patients ignoraient le nombre de jours d'apparition des symptômes et 24% ont été diagnostiqués positifs dans la première semaine d'apparition des symptômes.

➤ **Les symptômes :**

**Tableau 4:** les symptômes les plus fréquents remarqué au cours de notre l'étude.

Symptômes	Nombre (%)		
	Mali, n=100	Guinée, n=99	Total, n=199
Fièvre	<b>59 (59%)</b>	<b>20 (20,2%)</b>	<b>79 (39,7%)</b>
Courbature	<b>58 (58%)</b>	<b>17 (17,1%)</b>	<b>75 (37,7%)</b>
Perte d'appétit	<b>55 (55%)</b>	<b>17 (17%)</b>	<b>72 (36,2%)</b>
Essoufflement	<b>56 (56%)</b>	<b>10 (10,1%)</b>	<b>66 (33,2%)</b>
Faiblesse ou fatigue	<b>46 (46%)</b>	<b>19 (19,2%)</b>	<b>65 (32,7%)</b>
Éruption cutané	2 (2%)	4 (4%)	6 (3%)
Toux sèche	<b>34 (34%)</b>	<b>25 (25,2%)</b>	<b>59 (29,6%)</b>
Maux de tête	<b>40 (40%)</b>	<b>18 (18%)</b>	<b>58 (29,1%)</b>
Toux grasse	<b>50 (50%)</b>	7 (7%)	<b>57 (28,6%)</b>
Perte de gout	43 (43%)	14 (14,1%)	57 (28,6%)
Perte d'odorat	24 (24%)	13 (13,1%)	37 (18,6%)
Nez bouché	26 (26%)	10 (10,1%)	36 (16,8%)
Vomissement	19 (19%)	15 (15%)	34 (17,1%)
Compression thoracique	27(27%)	7 (7%)	34 (17,1%)
Gorge irritée	26 (26%)	7 (7%)	33 (16,6%)
Diarrhée	<b>33 (30%)</b>	3 (3%)	33 (16,6%)
Frissons	27 (27%)	3 (3%)	30 (15,1%)
Nausée	21 (21%)	7 (7%)	28(14,1%)

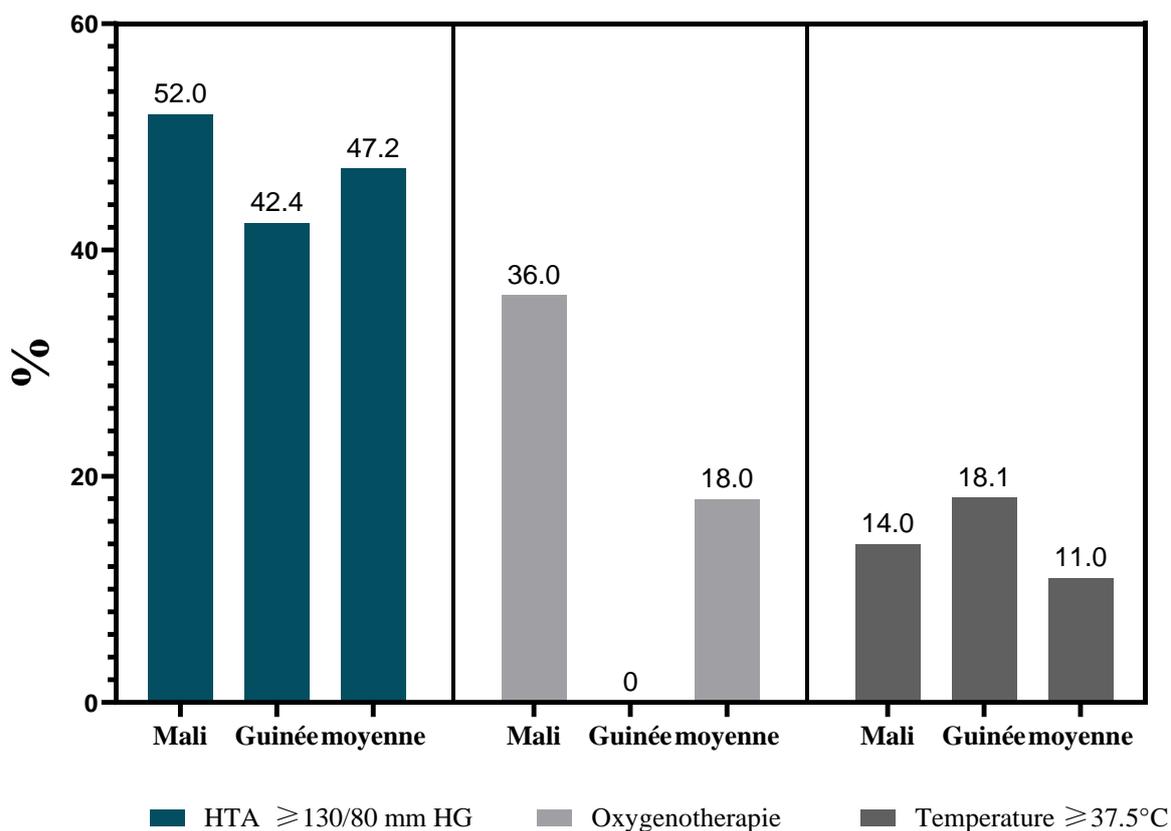
Les symptômes les plus fréquents remarqués lors de notre étude de la maladie à COVID-19 dans les centres de prise en charge étaient : la fièvre, l'essoufflement, la toux, les courbatures, diarrhée, la faiblesse, la perte de gout, la perte d'appétit, les maux de tête, les vomissements.

➤ **Les comorbidités :**

**Tableau 5:** les comorbidités les plus fréquents remarqué au cours de notre étude.

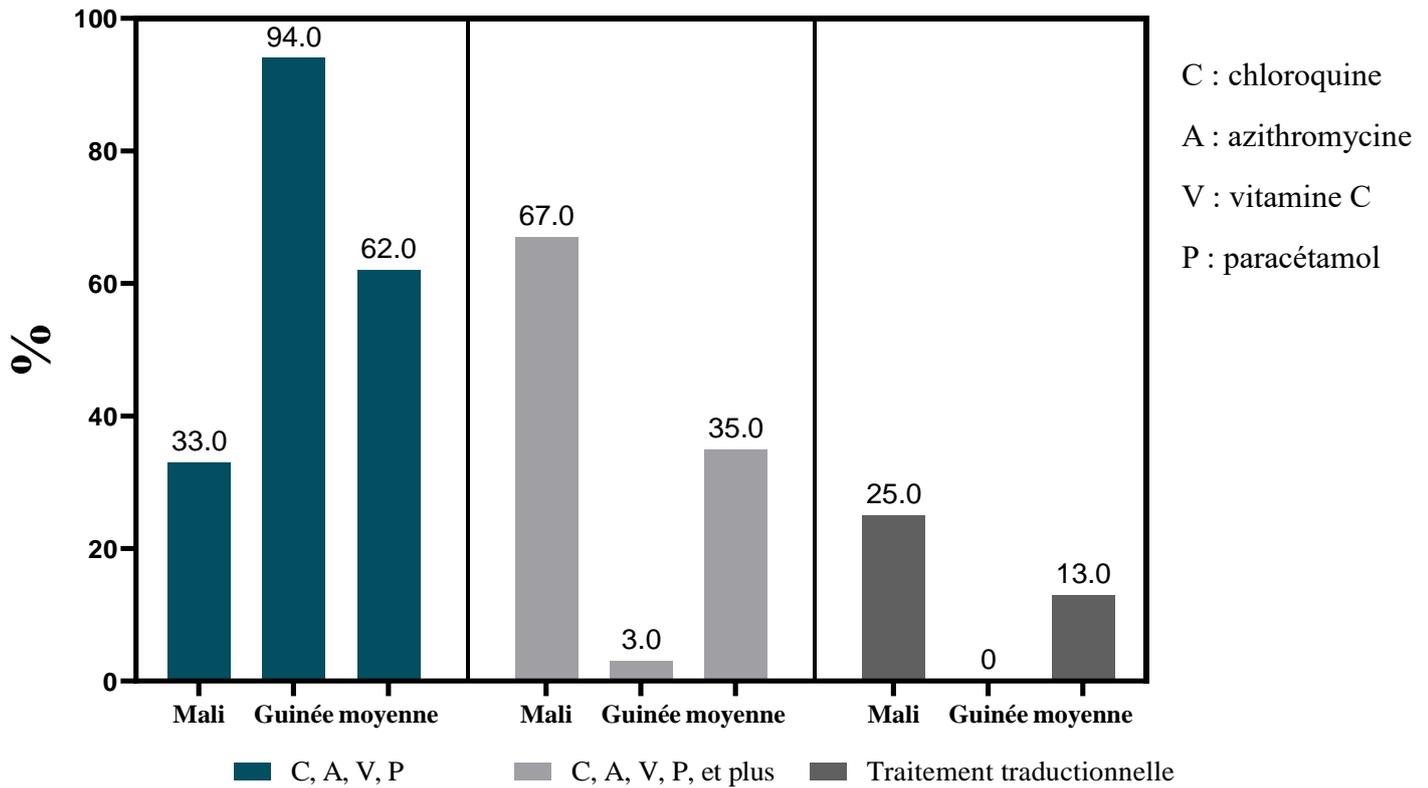
Les comorbidités	Nombre (%)		
	Mali, n=100	Guinée, n=99	Total, n=199
<b>Diabète sucre (type 1)</b>	<b>35 (35%)</b>	2 (2,02%)	<b>37 (18,6%)</b>
<b>Hypertension artérielle</b>	<b>35 (35%)</b>	2 (2,02%)	<b>37 (18,6%)</b>
<b>Obésité</b>	<b>14 (14%)</b>	0 (0%)	<b>14 (7%)</b>
<b>Maladie cardiaque</b>	5 (5%)	1 (1,01%)	6 (3%)
<b>Dialyse pour insuffisance rénal</b>	1 (1%)	4 (4,04%)	5 (2,5%)
<b>Asthme</b>	4 (4%)	0 (0%)	4 (2%)
<b>Maladie rénale chronique</b>	3 (3%)	1 (1,01%)	4 (2%)
<b>Emphysème pulmonaire</b>	1 (1%)	2 (2,02%)	3 (1,5%)
<b>Maladie du foie</b>	0 (0%)	3 (3,03%)	3 (1,5%)
<b>Cancer</b>	1 (1%)	0 (0%)	1 (0,5%)

Les comorbidités les plus fréquemment observés lors de notre étude étaient : le diabète, l'hypertension artérielle, l'obésité, les maladies cardiaques, la maladie rénale, les maladies respiratoires, les maladies du foie et cancer.



**Figure 29:** la répartition des patients en fonction des signes généraux.

Les patients qui ont reçu de l'oxygène supplémentaire représentaient 18%, soit 36% des patients au Mali, et 0% en Guinée ; 47,2% des patients lors de l'entre avaient une pression artérielle supérieur ou égale 130/80 mm Hg, au Mali, elle représentait 52% et en Guinée 42,4% ; et 11% des patients avec une température supérieur ou égale à 37.5°C.



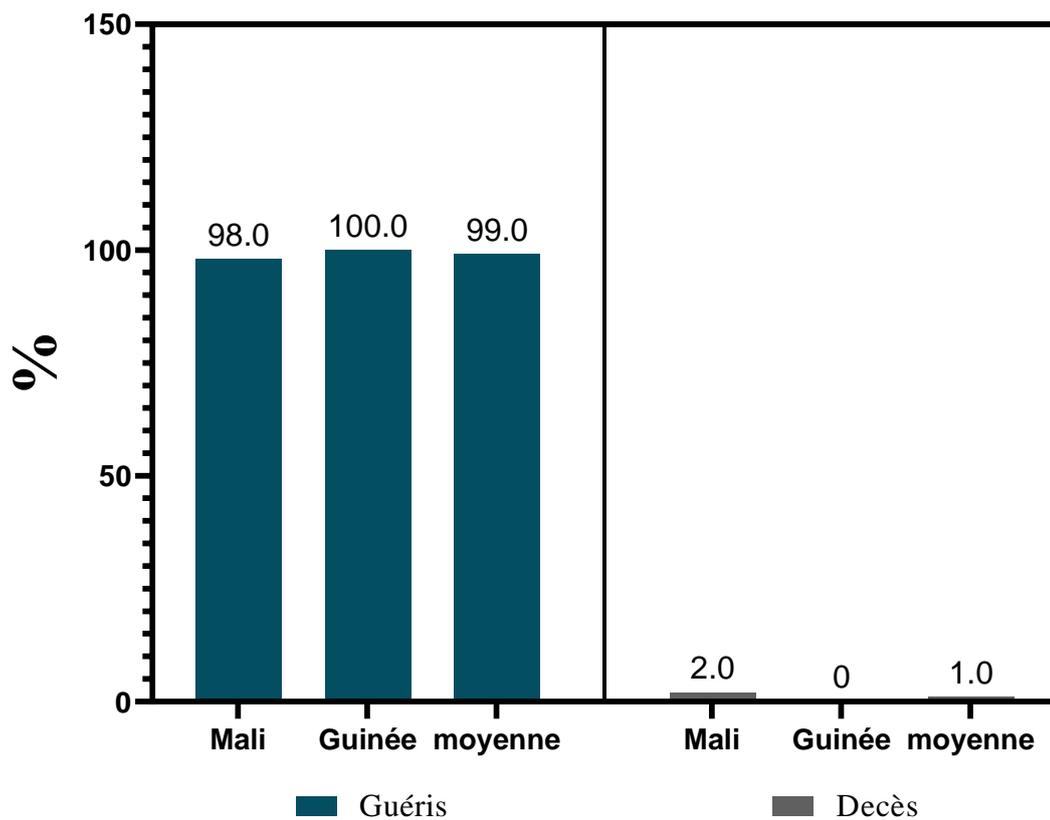
**Figure 30 :** le traitement traditionnel utilisé par les patients à la maison et les différents protocoles utilisés aux centres de prise en charge.

Au Mali 25% des patients ont fait des traitements traditionnels à la maison avant de se rendre aux structures de la santé.

En moyenne 62% des patients ont été traité en base de 33% des patients au Mali et 94% en Guinée ont été traités par le traitement de base (Chloroquine, azithromycine, vitamine C, paracétamol)

67% des patients au Mali et 3% en Guinée ont reçu d'autres traitements en plus du traitement de base.

### 5.3. Suivi de l'évolution des patients



**Figure 31:** issu des patients un mois après leur inclusion.

Nous avons exploré les dossiers médicaux des patients un mois après l'inclusion, en moyen 99% des patients ont été guéris et libérés ; avec 2% de décès au Mali et en Guinée 0% de décès observé.

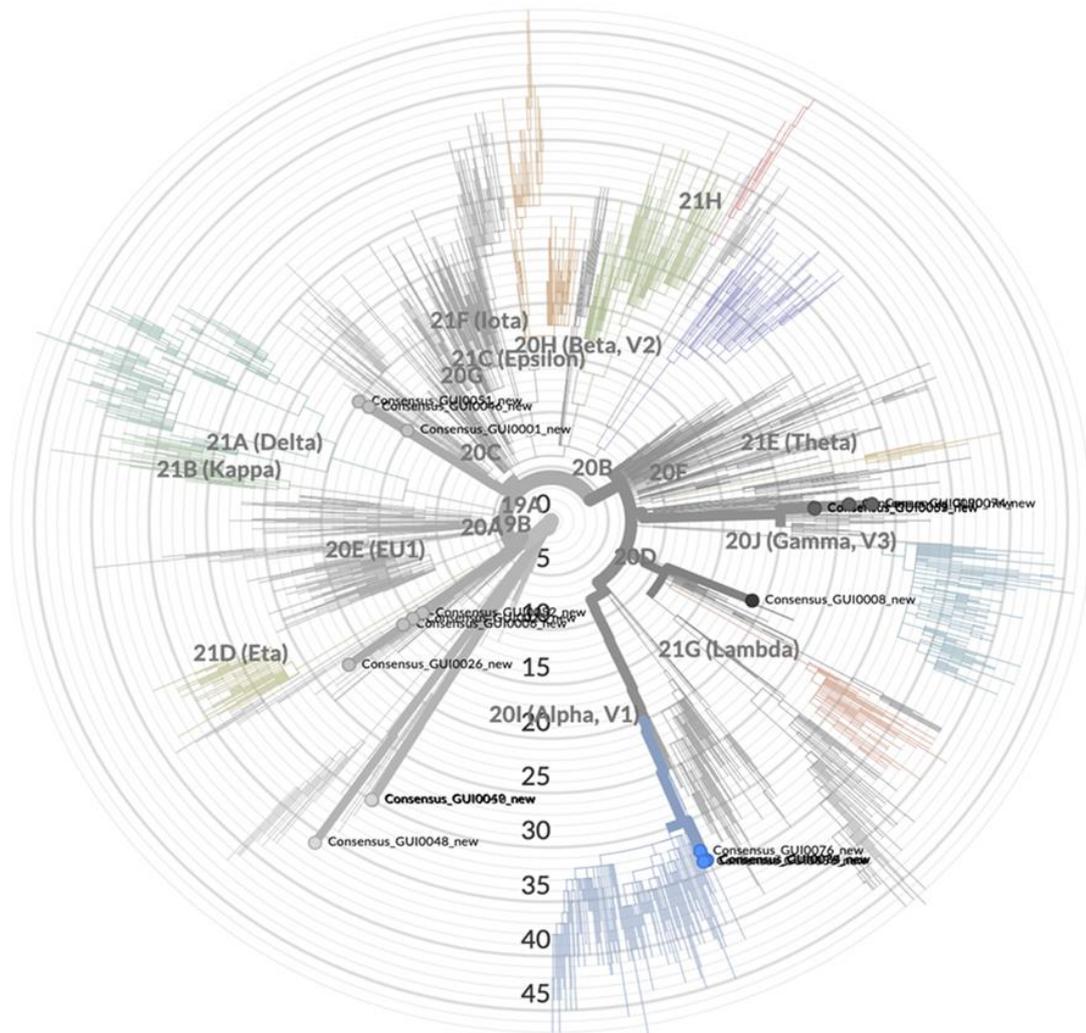
#### 5.4. Séquençage du génome entier

##### ➤ Séquençages du génome du SRAS-CoV-2

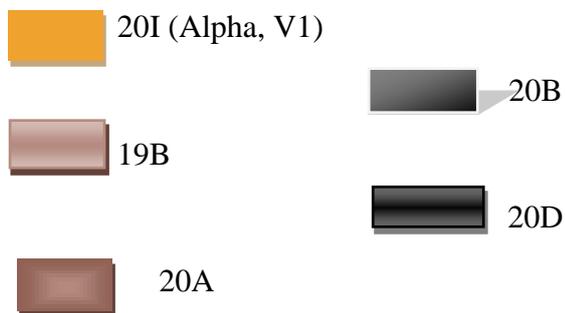
Sur les 200 échantillons provenant de la Guinée et du Mali, 27 échantillons ont été séquencés.

**Tableau 6:** nombre d'échantillons accepté pour le séquençage

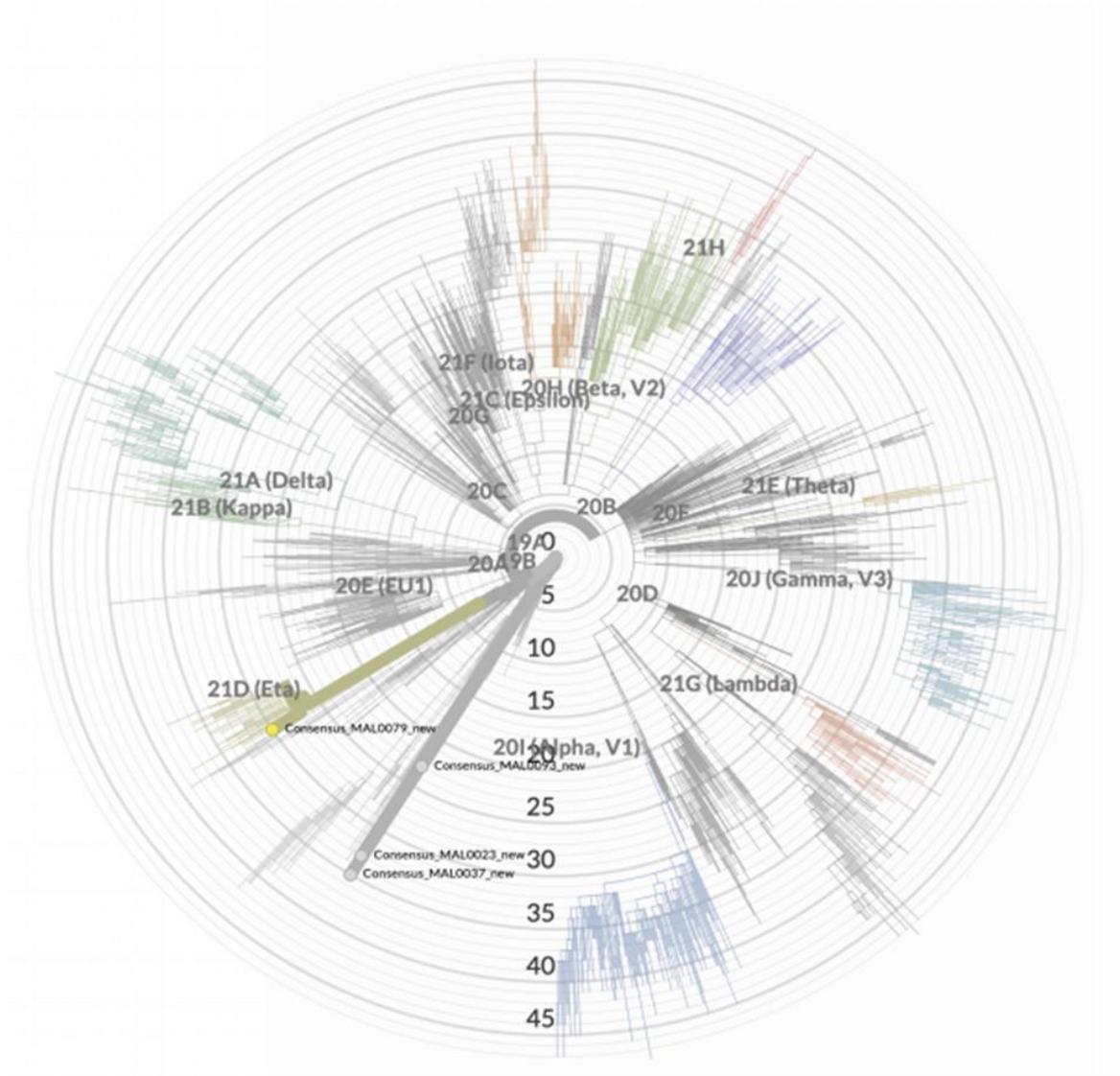
Séquencé	Mali	Guinée	Total
Non	93	80	173
Oui	7	20	27
<b>Total</b>	100	100	200



**Figure 32** : les variants circulant en Guinée (la classification Nextstrain)



Arbre phylogénique de l'évolution du SRAS-CoV-2 dans le temps depuis la souche sauvage 19A aux derniers variants détecté dans notre étude. Dans notre étude nous avons trouvé cinq variants : 19B, 20B, 20A, 20D, 20I. Le variant 19B a été détecté pour la première fois en 2019 et les variants 20B, 20A, 20D, 20I ont été pour la première fois détecté en 2020. Au vu de ces résultats, nous pouvons conclure qu'il y'a une très grande variation génétique du SRAS-CoV-2 observé courant notre étude.



**Figure 33:** les variants circulant au Mali (classification Nextstrain)

- 21D (Eta)
- 19B

Arbre phylogénique de l'évolution du SRAS-CoV-2 dans le temps depuis la souche sauvage 19A aux derniers variants détecté dans notre étude. Dans notre étude nous avons trouvé deux variants au Mali : 19B, 21D.

Le variant 19B qui a été détecté pour la première fois en 2019 dans le monde et le variant 21D a été détecté pour la première fois en 2021.

## 6. COMMENTAIRE ET DISCUSSION :

Notre étude a inclus 200 patients testés positifs au Covid-19 par la technique RT-PCR dont 100 patients du Mali et 100 patients de la Guinée Conakry, tous admis dans les centres de prise en charge du COVID-19. Notre étude consistait à suivre l'évolution du SRAS-CoV-2 dans le temps et les caractéristiques de la maladie.

### ➤ La répartition des patients en fonction du sexe et de la tranche d'âges

Dans notre étude le sexe masculin était nettement supérieur (66%) au sexe féminin (34%) probablement dû à une augmentation de facteur de risque chez le sexe masculin. Joseph Donamou et collaborateurs (48) ont trouvé dans leur étude 79% de sexe masculin, L.Placais et collaborateurs (49) ont trouvé 63,7 % de sexe masculin et A.R. Ouédraogo et collaborateurs (50) ont trouvé 64% de sexe masculin . Ce pourcentage élevé du sexe masculin s'explique par le fait que l'homme est généralement la source financière des familles en Afrique, ce qui le pousse à sortir pour aller travailler. Étant plus mobile et généralement en contact avec un nombre plus élevé de personnes, il s'expose à un risque de contamination plus élevé que les femmes et celles-ci sont le plus souvent cantonnées au rôle de ménagère, donc plus sédentaires.

L'âge moyen de notre étude était de 44.9 ans avec une majorité de 47% de 16-40 ans et 30% de  $\geq 61$  ans. Au Mali, l'âge moyen était de 55,7 ans avec 51% des patients  $\geq 61$  ans, 31% entre 41-60 ans et en Guinée l'âge moyen était de 34 ans avec 76% des patients entre 16-40 ans. Une étude déjà faite en Guinée par Joseph Donamou et collaborateurs (48) ont rapporté un âge moyen de  $59 \pm 14$  ans et au Burkina Faso par A.R. Ouédraogo et collaborateurs (50) ont rapporté  $43,52 \pm 17,75$  ans. Ces études ont trouvé dans leurs études que la tranche d'âge la plus touchée était 60 ans ou plus confirmant les résultats de notre étude.

### ➤ Les symptômes

Au cours de notre étude 35% des patients ont été admis dans les centres de prise en charge dans la première semaine d'apparition de leurs symptômes et 28% dans la deuxième semaine. Au Mali 51% ont été admis dans la deuxième semaine d'apparition de leurs premiers symptômes et 46% dans la première semaine. En Guinée 24% ont été diagnostiqués dans la première semaine. L'équipe de Joseph Donamou et collaborateurs (48) a montré au cours de son étude que, 75% de leurs patients ont été diagnostiqués dans un délai de moins de 14 jours après l'apparition du premier symptôme confirmant notre étude.

Les symptômes les plus fréquemment observés au cours de notre étude étaient la fièvre 39,7%, les courbatures 37,7%, la perte d'appétit 36,2%, l'essoufflement 33,2%, l'asthénie 32,7%, la toux sèche 29,6%, les maux de tête 29,1%, la toux grasse, 28,6%. Au Mali, les symptômes étaient plus accentués, dû à la différence âge entre les patients au Mali et en Guinée la fièvre 59%, les courbatures 58%, l'essoufflement 56%, la perte d'appétit 55%, la toux grasse 50%, l'asthénie 46%, la perte de goût 43%, les maux de tête 40%, la toux sèche 34%, les diarrhées 33%. En Guinée Joseph Donamou et collaborateurs (48) ont trouvé pendant leur étude, les symptômes suivants : La fièvre 49%, la toux 60%, les maux de tête 24%, les diarrhées 9% et une autre étude réalisée par C. Waechter et collaborateurs (51) a donné comme symptômes : la fièvre 83%, la toux 59%, l'anorexie 40%, l'essoufflement 31%, les maux de gorge, les céphalées, les diarrhées, anosmie, l'agueusie.

### ➤ **Les comorbidités**

Au cours de notre étude, les comorbidités observées étaient le diabète sucré avec 18,6%, l'hypertension artérielle 18,6%, l'obésité 7%, les maladies rénales 4,5%, les maladies cardiaques 3%, l'asthme 2% et la maladie du foie 1,5%. Ces comorbidités ont été beaucoup plus observées chez les personnes âgées avec une fréquence beaucoup plus élevée rapportée par Anish R. Mitra et al (52), dans leur étude les comorbidités les plus fréquentes étaient l'hypertension 46,2%, l'obésité 36,8%, le diabète 30,8%, les maladies cardiovasculaires 17,1%, la maladie rénale chronique 12,8%, l'asthme 12%, le cancer 6%, la maladie hépatique chronique 1,7% dans une population de 60 ans à 70ans.

Au Mali, ces comorbidités étaient beaucoup plus importantes dû à l'âge des patients recrutés, ainsi le diabète 35%, l'hypertension artérielle 35%, l'obésité 14%, les maladies cardiaques 5%, l'asthme 4%, les maladies rénales 3%. Dans beaucoup d'études ces comorbidités se sont présentées comme les facteurs de gravité de la maladie à covid-19 plus l'âge confirmé par Anish R. Mitra et al (52) qui ont trouvé et l'hypertension était de 46,2%, le diabète 30,8%, les maladies cardiovasculaires 17,1%, la maladie rénale chronique 12,8%, l'asthme 12%, le cancer 6%, la maladie hépatique chronique 1,7%, dans une population dont la tranche d'âge était de 60 ans-70 ans. Cette différence de fréquence s'explique par le fait que ces comorbidités citées sont plus associées à l'âge. Au Mali 36% des patients ont reçu d'oxygène au cours de leur séjour à l'hôpital, tout comme dans une étude de A.R. Ouédraogo et al (50) dont 21,3 % (97/456) des patients ont reçu une oxygénothérapie. Dans notre nous avons jugé de faire une corrélation entre l'oxygénothérapie, le diabète et l'hypertension artérielle, 40% des

patients diabétiques ont reçu de l'oxygène supplémentaire et 31% de patients hypertendus ont reçu d'oxygène supplémentaire.

➤ **Le traitement :**

Pendant le séjour de nos patients à l'hôpital 61,8% des patients ont été traités avec la Chloroquine, l'azithromycine, le paracétamol et la vitamine Plus 35,2% des patients ont reçu les molécules de base et d'autres traitements. Par manque de traitement spécifique contre COVID-19 beaucoup de pays d'Afrique ont adopté le protocole Azithromycine plus Chloroquine, la vitamine C, paracétamol et autres molécules tels que les anticoagulants et autres en cas d'une maladie associée. Au Burkina Faso, dans l'étude de A. Khannous et al (53) et A.R. Ouédraogo et al (50), dans la plupart des cas un traitement oral à base d'hydroxy chloroquine (397/456 [87 %]) et d'azithromycine (360/456 [78,9 %]) était administré. La ceftriaxone injectable était administrée chez 86/456 (18,8 %), les corticoïdes injectables chez 36/456 (7,9 %), la vitamine C chez 53/456 (11,6 %) et les héparines de bas poids moléculaires chez 26/456 patients (5,7 %).

Au Mali, vu la peur d'aller au centre de la santé ; 25% des patients de notre étude ont fait des traitements traditionnels à domicile, comme au début de la pandémie la médecine moderne ne disposait pas de traitement efficace contre la maladie COVID-19. Prof. Rokia Sanogo et al (54) Dans cette condition beaucoup de personnes se sont basées sur le protocole élaboré par le département de la médecine traditionnelle en partenariat avec la fédération Malienne des Associations des Thérapeutes Traditionnels et Herboriste. Les résultats obtenus étaient des répertoires des médicaments traditionnels améliorés et plantes médicinales avec des données de sécurité, efficacité et de qualité, notamment avec des propriétés antivirales, antitussives bronchodilatatrices, antioxydants et de renforcement du système immunitaire. Ces potentialités thérapeutiques peuvent contribuer à la prise en charge des personnes atteintes par la COVID-19.

➤ **Suivi de l'évolution des patients :**

Un mois après l'inclusion des patients dans cette étude, nous avons étudié les dossiers médicaux de ces patients aux différents centres de prise en charges, nous avons remarqué 1% de décès en moyenne tout comme l'étude réalisée en Afrique de l'ouest par M. Jaspard (55) ,dans trois centres de prise en charge il y a eu un taux de décès de 5% (1805 de patients) . En Guinée nous n'avons observé aucun cas de décès (0%) et au Mali 2% de décès a été constaté. Malgré les ressources limitées en Afrique, avec les plateaux techniques qui ne répondent pas

exactement au besoin de soin, le nombre de décès enregistré est peu par rapport aux occidentaux.

➤ **Séquençages du génome du SARS-Cov-2 :**

Malgré notre climat de l’Afrique sub-saharienne, les variants retrouvés chez les occidentaux ont été retrouvés chez nous en Afrique avec les mêmes caractéristiques cliniques et virologiques. Les variants identifiés étaient les suivants :

En Guinée : **20I (Alpha, V1), 20B, 20D, 20A, 19B**

Au Mali : **21D (Eta), 19B**

Au vu de nos séquences nous n’avons pas trouvé la première souche (**19A**) sauvage identifiée à la fin de 2019 en Chine. Il a été remarqué en février 2022, que cette souche **19A** a subi une modification dans la protéine de Spike (**D614G**), nous conduisant aux variants **20A** et **19B**. Le **20A**, cette modification lui a facilité de s’attacher au récepteur ACE-2 et qui est la première responsable de la propagation du virus dans le monde entier et tous les autres variants identifiés notre par l’étude de Francisco Barona-Gomez et al (56).

Le 20 septembre 2020, le variant **20A** a subi des mutations très important dans son évolution aboutissant à la formation de deux variants préoccupants (le variant **Delta** et le variant **Beta**), cinq variants d’intérêt (le variant **Kappa**, le variant **Mu**, le variant **Eta**, le variant **Iota** et le variant **Epsilon**) et au variant **20B**, qui nous a conduit à deux variants préoccupants (le variant **Omicron** et le variant **Alpha**) et deux variants d’intérêt (le variant **Gamma** et le variant **Thêta**). Le variant **20I** appelé **variant Alpha** ou variant britannique observé dans le Kent avec plusieurs mutations et délétions. Principalement la mutation (**N501Y**) dans RDB lui confère encore une augmentation de la transmission, les délétions (**69-70, et 144-145**) lui permettant d’échapper au système immunitaire associé à la mutation (**P681H**) dans le site de clivage du furane augmente les risques de faire les formes plus sévères ; ce même variant a été signalé aux Etats-Unis fin décembre 2020 montré par l’étude de Francisco Barona-Gomez et al (56) et Aleem A et al (6) ce variant Alpha a été identifié dans notre étude.

Le variant **21D** ou le **variant Eta** provenant de souche sauvage (**20A**) qui avait subi d’autres mutations **D614G, E484G, A67V, Q677H, F888L** et les délétions (**69-70 et 144**) a été détecté pour la première fois à New York en novembre 2020 et classé comme variant d’intérêt par les CDC et l’OMS en raison de leur réduction potentielle de la neutralisation par le

traitement anticorps et sérums vaccinaux. Tout comme le Mali, les variant Eta et Alpha ont été les plus dominance à Nigeria en fin de 2020 montré par Egon A.Ozer et al (47), que le variant Eta était le plus dominant en Afrique de l'Ouest.

Le variant **20D** ou le **variant lambda** provenant du variant **20B** a été détecté pour la première fois au Pérou classé comme variant d'intérêt par l'OMS en juin 2021 en raison d'une présence accrue de ce variant dans la région sud-américaine montre par Abdul Alem et al (6) ce variant a été retrouvé au Mali et en guinée au cors de notre étude.

## **7. Les limites de l'étude**

Au cours de cette étude nous n'avons pas pu :

- Doser les marqueurs biologiques.
- Faire un lien entre la gravité de la maladie et les variants du SRAS-CoV-2.
- Beaucoup d'échantillons n'ont été séquencés par rapport au nombre total.

## **8. Conclusion :**

Dans notre étude de caractéristique virologique du SRAS-CoV-2 au Mali et en Guinée. Nous pouvons dire que malgré les ressources limitées de nos deux pays, dans l'étude virologique nous avons observé moins de variants circulant du SRAS-CoV-2 et moins de décès des patients infectés par la COVID-19 par rapport aux occidentaux. Les personnes âgées et les personnes présentant un ou des comorbidités sont des personnes à risque et qui ont fait plus de temps d'hospitalisation que les autres.

Ces phénomènes exceptionnels stimulent la recherche et posent, très ouvertement, la question de la relation de l'homme avec son environnement et de la possibilité de maîtriser le risque pandémique.

## **9. Recommandations :**

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

### **Aux autorités sanitaires et politiques**

- Encourager et financer les activités de recherche sur la maladie de la COVID-19 pour une meilleure appréhension des caractéristiques cliniques de COVID-19 et évolution virologique de ce virus dans le temps, ce qui favoriserait la mise au point d'un protocole de traitement, connaître les populations vulnérables et les clusters du virus SRAS.

### **Aux chercheurs**

- Mener d'autres études à large échelle dans la population malienne sur les caractéristiques cliniques de COVID-19 et virologiques du virus à SRAS-CoV-2 afin de mieux caractériser les variants du SRAS-CoV-2 au Mali ;
- Déterminer les caractéristiques des différents variants circulant au Mali pour mieux connaître impact de ces variants sur la population (les comorbidités, les effets des vaccins et la gravité)

### **A la population**

- Participer activement aux activités de recherche afin de faciliter la recherche de solution locale a maladie infectieuse émergente la COVID-19 ;
- Respecter les mesures de protections dictées par les autorités sanitaires, dans l'optique de limiter la propagation de ces maladies infectieuses émergentes.

## 11. Références :

1. Yang Y, Xiao Z, Ye K, He X, Sun B, Qin Z, et al. SARS-CoV-2 : characteristics and current advances in research. *Virology Journal*. 2020 ;17(1) :117.
2. Machhi J, Herskovitz J, Senan AM, Dutta D, Nath B, Oleynikov MD, et al. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*. Springer ; 2020. p. 1.
3. Liu J, Zheng X, Tong Q, Li W, Wang B, Sutter K, et al. Overlapping and discrete aspects of the pathology and pathogenesis of the emerging human pathogenic coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and 2019-nCoV. Vol. 92, *Journal of Medical Virology*. John Wiley and Sons Inc. ; 2020. p. 491-4.
4. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2 : Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020 ;10 :587269.
5. coronavirus-ouest-afrique - Club du Sahel et de l'Afrique de l'Ouest (CSAO) [Internet]. Disponible sur : <https://www.oecd.org/fr/csao/coronavirus-ouest-afrique/>
6. Aleem A, Akbar Samad AB, Slenker AK. Emerging Variants of SARS-CoV-2 And Novel Therapeutics Against Coronavirus (COVID-19). In : *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing; 2022 Disponible sur : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570580/>
7. Guerin V, Sarrazin E, Thomas JL, Wonner M. COVID-19 : rapport d'étude rétrospective clinique et thérapeutique Etude rétrospective chez 88 sujets avec 3 approches thérapeutiques différentes (traitement symptomatique / azithromycine / azithromycine + hydroxychloroquine) Rapport d'expérience de médec. *SycomoreenFreeFr*. 2020 ;1-37.
8. Coronaviruses [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. Disponible sur : <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/coronaviruses>
9. Vabret A, Dina J, Brison E, Brouard J, Freymuth F. Coronavirus humains (HCoV). *Pathol Biol (Paris)*. 2009 ;57(2) :149-60.
10. Segondy M. Les Coronavirus humains. *Rev Francoph Lab*. 2020(526) :32-9.

11. Recherche et dosage des anticorps anti S-RBD (SARSCov2) [Internet]. Eurofins Biomnis. Disponible sur : <https://www.eurofins-biomnis.com/covid/parametres-biologiques/recherche-dosage-anticorps-anti-s-rbd/>
12. Arya R, Kumari S, Pandey B, Mistry H, Bihani SC, Das A, et al. Structural insights into SARS-CoV-2 proteins. *J Mol Biol.* 2021 ;433(2) :166725.
13. CDC. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 Disponible sur : <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-info.html>
14. Jamai Amir I, Lebar Z, yahyaoui G, Mahmoud M. Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio.* 2020 ;31(619) :15-20.
15. Collomb J. Approche moléculaire et physico-chimique de la détection du coronavirus entérique bovin dans l'environnement. :253.
16. Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection : Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res.* 2020 ;24 :91-8.
17. Suivi des variants du SARS-CoV-2 [Internet]. Disponible sur : <https://www.who.int/fr/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>
18. CoVariants [Internet]. Disponible sur : <https://covariants.org/>
19. SARS-CoV-2 variants of concern as of 2022 [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. Disponible sur : <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>
20. SARS-CoV-2 variants of concern as of 2021 [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. Disponible sur : <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>
21. Covid-19 : ces variants qui se propagent à travers le monde [Internet]. TV5MONDE. 2021 Disponible sur : <https://information.tv5monde.com/info/covid-19-ces-variants-qui-se-propagent-travers-le-monde-400183>

22. COVID-19 situation update worldwide, as of week 39, updated 7 October 2021 [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. Disponible sur : <https://www.ecdc.europa.eu/en/geographical-distribution-2019-ncov-cases>
23. mali\_sitrep\_covid-19\_n194\_du\_2022.pdf [Internet]. Disponible sur : [https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/mali\\_sitrep\\_covid-19\\_n194\\_du\\_2022.pdf](https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/mali_sitrep_covid-19_n194_du_2022.pdf)
24. Maladie Covid-19 (nouveau coronavirus) [Internet]. Institut Pasteur. 2020. Disponible sur : <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/maladie-covid-19-nouveau-coronavirus>
25. Transmission of COVID-19 [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. Disponible sur : <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/transmission>
26. Traoré A. Réactivité de la protéine Spike du SARS-CoV-2 et de ses domaines de liaison RBD et P3 aux sérums des patients covid-19 et avant covid-19 au Mali. 2021 ; Disponible sur : <https://www.bibliosante.ml/handle/123456789/5003>
27. Caumes E. L'infection à SARS-CoV-2. Arch Mal Coeur Vaiss Pratique ; 2020(291) :2-4.
28. Clinical characteristics of COVID-19 [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. Disponible sur : <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/clinical>
29. Desvaux É, Faucher JF. Covid-19 : aspects cliniques et principaux éléments de prise en charge. Rev Francoph Lab ; 2020(526) :40-7.
30. Hantz S. Diagnostic biologique de l'infection à Sars-CoV-2 : stratégies et interprétation des résultats. Rev Francoph Lab. 2020 ;2020(526) :48-56.
31. COVID-19 : Milieu de transport viral (VTM) pour le diagnostic Clinisciences [Internet]. Disponible sur : <https://www.clinisciences.com/lire/newsletter-26/covid-19-milieu-de-transport-viral-2267.html>

32. Packaging and Transporting Infectious Substances | Smallpox | CDC [Internet]. 2019 Disponible sur : <https://www.cdc.gov/smallpox/lab-personnel/specimen-collection/pack-transport.html>
33. Comment expédier ses échantillons [Internet]. Institut Pasteur. 2016 Disponible sur : <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/centres-nationaux-referance/materiel-biologique/comment-expedier-ses-echantillons>
34. Taleghani N, Taghipour F. Diagnosis of COVID-19 for controlling the pandemic: A review of the state-of-the-art. Biosens Bioelectron. 2021 ;174 :112830.
35. Taleghani N, Taghipour F. Diagnosis of COVID-19 for controlling the pandemic: A review of the state-of-the-art. Biosens Bioelectron. 2021 ;174 :112830.
36. La révolution de la génomique : les nouvelles méthodes de séquençage et leurs applications [Internet]. Planet-Vie. Disponible sur : <https://planet-vie.ens.fr/thematiques/manipulations-en-laboratoire/la-revolution-de-la-genomique-les-nouvelles-methodes-de>
37. Lamoril J, Ameziane N, Deybach JC, Bouizegarène P, Bogard M. Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée. 2008 ;23(5) :260-79.
38. Le séquençage d'acides nucléiques : 30 ans, entre artisanat et ère post-industrielle | biorigami [Internet]. Disponible sur : <https://www.biorigami.com/?p=88>
39. nahoy. Le séquençage, une histoire de générations [Internet]. Blog bioinformatique communautaire scientifique. 2012, Disponible sur : <https://bioinfo-fr.net/le-sequencage>
40. Lamoril J, Ameziane N, Deybach JC, Bouizegarène P, Bogard M. Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée. 2008 ;23(5) :260.
41. Treatment and pharmaceutical prophylaxis of COVID-19 [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. Disponible sur : <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/treatment>

42. DIRECTIVES COVID 19 Vers1 15 04 2020 SD. Pr Seydou Doumbia, Épidémiologiste ; Pr Daouda K. Minta, Maladies Infectieuses ; Pr Yacouba Toloba, Pneumo-Physiologie
43. WHO-2019-nCoV-IPC\_PPE\_use-2020.4-fre.pdf [Internet]. Disponible sur : [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338939/WHO-2019-nCoV-IPC\\_PPE\\_use-2020.4-fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338939/WHO-2019-nCoV-IPC_PPE_use-2020.4-fre.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
44. COVID-19 ARNm : vaccins à ARN messenger contre la COVID-19 - Vaccins - Professionnels de la santé - MSSS [Internet]. Disponible sur : <https://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/vaccination/piq-vaccins/covid-19-vaccin-a-arn-messenger-contre-la-covid-19/>
45. COVID-19 PRA : vaccins à protéine recombinante avec adjuvant contre la COVID-19 - Vaccins - Professionnels de la santé - MSSS [Internet]. Disponible sur : <https://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/vaccination/piq-vaccins/covid-19-pra-vaccin-a-proteine-recombinante-avec-adjuvant-contre-la-covid-19/>
46. COVID-19 VV : vaccins à vecteur viral contre la COVID-19 - Vaccins - Professionnels de la santé - MSSS [Internet]. Disponible sur : <https://www.msss.gouv.qc.ca/professionnels/vaccination/piq-vaccins/covid-19-vv-vaccins-a-vecteur-viral-contre-la-covid-19/>
47. Multiple expansions of globally uncommon SARS-CoV-2 lineages in Nigeria | Nature Communications [Internet]. Disponible sur : <https://www.nature.com/articles/s41467-022-28317-5>
48. Donamou J, Bangoura A, Camara LM, Camara D, Traoré DA, Abékan RJM, et al. Caractéristiques épidémiologiques et cliniques des patients COVID-19 admis en réanimation à l'hôpital Donka de Conakry, Guinée : étude descriptive des 140 premiers cas hospitalisés. *Anesthésie & Réanimation*.2021 ;7(2) :102-9.
49. Plaçais L, Richier Q. COVID-19 : caractéristiques cliniques, biologiques et radiologiques chez l'adulte, la femme enceinte et l'enfant. Une mise au point au cœur de la pandémie. *Rev Med Interne*. 2020 ;41(5) :308-18.
50. Ouédraogo AR, Bougma G, Baguiya A, Sawadogo A, Kaboré PR, Minougou CJ, et al. Facteurs associés à la survenue de la détresse respiratoire aiguë et au décès chez des

- patients atteints de COVID-19 au Burkina Faso. *Revue Des Maladies Respiratoires*. 2021 ;38(3) :240.
51. Waechter C. Manifestations cliniques et paracliniques de la COVID-19, diagnostic virologique. *Npg*. 2021 ;21(125) :297-303.
  52. Mitra AR, Fergusson NA, Lloyd-Smith E, Wormsbecker A, Foster D, Karpov A, et al. Caractéristiques de départ et issues chez des patients atteints de COVID-19 hospitalisés dans des unités de soins intensifs à Vancouver (Canada) : série de cas. *CMAJ*. 2020 ;192(47): E1550-8.
  53. Khannous A, Bounoua F, Moubachir H, Serhane H. Profil épidémiologique, clinique et évolutif de la Covid-19 chez le personnel de santé à l'hôpital Hassan II d'Agadir. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. 2022 ;14(1) :137.
  54. Ressources de la médecine traditionnelle dans la lutte contre la Covid-19 [Internet]. `{ $plugin.tx_news.opengraph.site_name }`. Disponible sur : <https://www.fes.de/fr/section-afrique/nouvelles-de-la-section-afrique/traditional-medicine-resources-in-the-fight-against-covid-19>
  55. Jaspard M, Saliou Sow M, Juchet S, Dienderé E, Serra B, Kojan R, et al. Présentation clinique, survie et facteurs associés à la mortalité : une étude prospective dans trois centres COVID-19 en Afrique de l'Ouest. *Infect Dis Now*. 2021 ;51(5): S59.
  56. Barona-Gómez F, Delaye L, Díaz-Valenzuela E, Plisson F, Cruz-Pérez A, Díaz-Sánchez M, et al. Phylogenomics and population genomics of SARS-CoV-2 in Mexico during the pre-vaccination stage reveals variants of interest B.1.1.28.4 and B.1.1.222 ou B.1.1.519 and the nucleocapsid mutation S194L associated with symptoms. *Microbial Genomics* [Internet]. 2021 ;7(11). Disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8743546/>

## 12. Annexe

### Matériel de travail

#### ➤ Les consommables

Ecouvillons, Tube EDTA, Tube sec, Seringues, Epicrâniens, Viscères, Bavettes, Gants, Saturomètre, Tensiomètre, Tablette, Blouse, Thermos, Stylo, Marqueur, Questionnaire, Centrifugeuse, Congélateur a -80, Cryotube, Garo, Machine Illumina Miseq, Machine à covariables, Machine de quantification d'ADN (Qubit et qtPCR), Support magnétique, Appareil PCR, Tubes PCR 96 puits, Joint de plaque, Plaque à fond rond 96 puits, Les pipettes de pointes 20ul, 100ul, 200ul, 1000ul, Minuteur, Gants jetables sans talc (utilisation générale), Tissu de laboratoire non pelucheux, Papier pour lentilles, Tubes MiSeq

#### ➤ Les réactifs

VTM (milieu de transport des virus), La trousse de reactitif MiSeq, La flow cell MiSeq, Cartouches et réactifs Miseq, Lingettes imbibées d'alcool, isopropylique à 70% ou éthanol à 70% (nettoyage du portoir de la flow cell), NaOCl à 5%, Stock de NaoH, qualité biologie moléculaire, Tubes micocentrifuger, Eau de laboratoire, QIAamp viral RNA Minikit (Qiagen), Kit de synthèse SuperScript IV First Strand, Q5 Hot Start HF Taq Polymerase, Billes AmpureXP, Enzymatique KAPA HyperPrep et Prep, Codes à barres NEXTflex et KAPA, HyperPrep DNA Ligase, Billes AmpureXP, KAPA HiFi HotsTart, KAPA Library Amp, Bwa version 0.7.15, D'ivar v1.2.2, Flow Cell MiSeq v2 500 cycles (Illumina)

## Les différents acides aminés intégrés lors de la synthèse des protéines

Nom complet de l'acide aminé	Code à une lettre	Code à trois lettres
Alanine	A	Ala
Arginine	R	Arg
Asparagine	N	Asn
Aspartate ou acide aspartique	D	Asp
Cystéine	C	Cys
Glutamate ou acide glutamique	E	Glu
Glutamine	Q	Gln
Glycine	G	Gly
Histidine	H	His
Isoleucine	I	Ile
Leucine	L	Leu
Lysine	K	Lys
Méthionine	M	Met
Phénylalanine	F	Phe
Proline	P	Pro
Sérine	S	Ser
Thréonine	T	Thr
Tryptophane	W	Trp
Tyrosine	Y	Tyr
Valine	V	Val

**Question :**

**CRF Catalyser COVID-19 : CARACTERISATION CLINIQUE ET VIROLOGIQUE  
DU COVID-19 AU MALI ET EN GUINEE**

**Aspects Sociodémographiques :**

**Généraux :**

1. Âge : \_\_\_\_\_ ans
2. Sexe : \_\_\_\_M\_\_\_\_F
4. Ethnie : \_\_\_\_\_
5. État civil : \_\_\_\_\_
6. Profession : \_\_\_\_\_
7. Résidence : \_\_\_\_\_
8. Numéro de téléphone : \_\_\_\_\_

**Habitat :**

1. Combien de personnes vivent avec vous dans la même maison ? \_\_\_\_\_
2. Dans quel type de maison habitez-vous ? a) Maison en tôle\_\_\_\_ b) Maison en paille \_\_\_\_ c) Maison en ciment\_\_\_\_ d) Maison en banco\_\_\_\_ e) Autre (spécifiez)\_\_\_\_\_
3. Habitez dans un : a) Village\_\_\_\_ b) Ville/centre-ville\_\_\_\_ C) Ville/périphérie\_\_\_\_ d) Autre (spécifiez)\_\_\_\_\_
4. Méthode de Refroidissement : a) Climatiseur\_\_\_\_ b) Ventilateur\_\_\_\_ c) Autre (spécifiez)\_\_\_\_\_

**Facteurs de Risque COVID-19/Antécédents**

**Voyage :**

Avez-vous voyagé(e) au cours des deux derniers mois ? Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas \_\_\_

Si oui, quand êtes-vous parti ? ..... Quand êtes-vous revenu ?

Où avez-vous voyagé ? \_\_\_\_\_ Intérieur du pays .....  
Extérieur du pays.....

Quel moyen de transport avez-vous utilisé ? \_\_Avion ..... Bus ..... Voiture  
personnelle ..... Bateau ..... Autre à Préciser

**Conditions de santé sous-jacentes :**

Un médecin ou un autre professionnel de la santé vous a-t-il déjà dit que vous présentiez l'une des conditions suivantes, ou pensez-vous des médicaments pour l'une des conditions suivantes ?

a. Obésité  Oui  Non  Je ne sais pas

b. Diabète sucré  Oui  Non  Je ne sais pas

c. Hypertension artérielle  Oui  Non  Je ne sais pas

d. Maladie cardiaque  Oui  Non  Je ne sais pas

e. Cancer  Oui  Non  Je ne sais pas

f. Asthme (nécessitant des médicaments)  Oui  Non  Je ne sais pas

g. Emphysème pulmonaire / BPCO  Oui  Non  Je ne sais pas

h. Autre maladie pulmonaire chronique qui n'est ni l'asthme ni BPCO  Oui  Non  Je ne sais pas

i. Maladie rénale chronique  Oui  Non  Je ne sais pas

j. Dialyse pour insuffisance rénale  Oui  Non  Je ne sais pas

k. Maladie du foie  Oui  Non  Je ne sais pas

**l. État immunodéprimé :**

• Traitement du cancer  Oui  Non  Je ne sais pas

• Greffe de moelle osseuse ou d'organe  Oui  Non  Je ne sais pas

• Déficits immunitaires, VIH / SIDA  Oui  Non  Je ne sais pas

• Utilisation prolongée de corticostéroïdes  Oui  Non  Je ne sais pas

• Autre affaiblissement immunitaire médicament ?  Oui  Non  Je ne sais pas

• Autre maladie chronique \_\_\_\_\_

Traitement traditionnel dans les deux semaines passées :  Oui  Non  Je ne sais pas

Si oui à Préciser

.....

Autres traitements médicaux : .....

**Caractéristiques Cliniques COVID-19/Présent :**

**Symptômes du covid-19 :**

1. Au cours des deux dernières semaines, avez-vous eu l'un des symptômes suivants ?

a. Fièvre Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

b. Essoufflement Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

d. Compression thoracique Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

e. Toux sèche Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

F. Toux grasse Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

g. Courbatures et/ou douleurs musculaires Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne  
sais pas \_\_\_

h. Frissons Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

i. Gorge irritée Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne  
sais pas \_\_\_

j. Nez bouché ou qui coule Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

k. La diarrhée Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

l. Faiblesse ou fatigue Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne  
sais pas \_\_\_

m. Perte d'odorat Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

n. Perte de goût Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

o. Perte d'appétit Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

p. Vomissements Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas  
\_\_\_

q. La nausée Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne  
sais pas \_\_\_

r. Maux de tête Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas

—  
s. Éruptions cutanées Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas

—  
Si oui Précisez : .....

t. Autres symptômes (Précisez) : \_\_\_\_\_

**Début des symptômes :**

1. Date de début des symptômes ? (JJ/MM/AAAA) \_\_\_/ \_\_\_/

2. Nombre de jours depuis le début des symptômes \_\_\_\_\_ jours

**Examen clinique/Signes vitaux :**

Pression artérielle : \_\_\_/\_\_\_

Rythme cardiaque : \_\_\_\_\_/min

Fréquence respiratoire : \_\_\_\_\_/min

Température : \_\_\_\_\_

Saturation en oxygène : \_\_\_\_\_

Autres(spécifiez) \_\_\_\_\_

**Tests de laboratoire effectués :**

1. COVID-19 RT-PCR : positif\_\_\_ négatif\_\_\_ Valeurs Ct : \_\_\_\_\_

2 Autres tests (spécifiez) \_\_\_\_\_

Résultats \_\_\_\_\_

**Questionnaire de suivi un mois plus tard (en utilisant le dossier de l'hôpital)**

**Devenir de la maladie :**

1. Combien de temps le patient a été hospitalisé \_\_\_\_\_ jours

2. Quel traitement a-t-il/elle reçu :

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

3. Quelle a été l'issue de la maladie :

- a. Toujours hospitalisé(e) \_\_\_\_\_ Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas
- b. Le patient(e) a reçu de l'oxygène \_\_\_\_\_ Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas
- c. Le patient a été mis sous respirateur  
sais pas \_\_\_\_\_ Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne
- d. Guéri(e) et libéré(e) de l'hôpital \_\_\_\_\_ Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas
- e. A infecté d'autres contacts \_\_\_\_\_ Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne sais pas
- \_\_\_\_\_ Si oui, combien \_\_\_\_\_
- F. Est Décédé(e) \_\_\_\_\_ Oui\_\_\_ Non \_\_\_ Je ne  
sais pas \_\_\_\_\_
- g. Autres \_\_\_\_\_

## 11. Fiche signalétique

**NOM :** COULIBALY  
YOUSOUF

**PRENOM :**

**TELEPHONE :** (+223) 93338766  
coulibalyy260@gmail.com

**Email :**

**Titre :** Caractéristiques virologiques et cliniques du SARS-CoV-2 dans les centres de prise en charge de la COVID-19 au Mali et en Guinée

**VILLE DE SOUTENANCE :** Bamako

**PAYS D'ORIGINE :** Mali

**ANNEE UNIVERSITAIRE :** 2021-2022

**LIEU DE DEPOT :** Bibliothèque de la FMOS et FAPH

**SECTEUR D'INTERET :** Virologie, Biologie Moléculaire, Epidémiologie

### Résumé

Découverte à Wuhan, en Chine, fin 2019, la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19), causée par le virus SAR-CoV-2, s'est propagée rapidement à travers le monde, a fait des millions de morts dans le monde et continue de menacer des millions de vies supplémentaires. Nous avons mené une étude transversale virologique et clinique au Mali et en Guinée dans le but de décrire le profilage virologique du SRAS-CoV-2 (séquençage du génome entier du SARS-CoV-2 a été réalisé à Chicago. Une analyse bio-informatique a été effectuée également à Chicago) dans les deux pays de l'Afrique subsaharienne. Des échantillons nasopharyngés ont été collectés auprès des participants dans les centres de prise en charge de COVID-19 au Mali (CHU du Point G et CHU de l'hôpital du Mali à Bamako) et en Guinée (CHU de l'hôpital National Donka à Conakry).

Un total de 200 participants positifs au SARS-CoV-2 par RT-PCR ont été inclus dans cette étude, et un examen physique a été effectué par des médecins pour chaque participant, et des paramètres physiologiques clés ont été collectés. Les symptômes les plus fréquents remarqué au cours de notre l'étude étaient la fièvre, l'essoufflement, la toux, les courbatures, la faiblesse, la perte de gout, la perte d'appétit, les maux de tête. Les comorbidités les plus fréquents remarqué au cours de notre étude étaient : le diabète sucré, l'hypertension artérielle, l'obésité, les maladies cardiaques, les maladies respiratoires, les maladies rénales et les maladies du foie. Les variants identifiés étaient les suivants en Guinée : **20I (Alpha, V1), 20B, 20D, 20A, 19B**, au Mali : **21D (Eta), 19B**.

**Mots-clés :** Mali, Guinée, SARS-CoV-2, séquençage.

**Title :** Virological and clinical characteristics of SARS-CoV-2 in COVID-19 care centers in Mali and Guinea

### **Summary**

Discovered in Wuhan, China, in late 2019, coronavirus 2019 (COVID-19), caused by the SAR-CoV-2 virus, has spread rapidly around the world, claimed millions of lives worldwide and continues to threaten millions more. We conducted a virological and clinical cross-sectional study in Mali and Guinea to describe the virological profiling of SARS-CoV-2 (whole genome sequencing of SARS-CoV-2 was performed in Chicago. Bioinformatics analysis was also performed in Chicago) in the two sub-Saharan African countries. Nasopharyngeal samples were collected from participants at COVID-19 management centres in Mali (Point G University Hospital and Mali Hospital University Hospital in Bamako) and Guinea (Donka National Hospital University Hospital in Conakry).

A total of 200 SARS-CoV-2 positive participants by RT-PCR were included in this study, and a physical examination was performed by physicians for each participant, and key physiological parameters were collected. The most common symptoms noted during our study were fever, shortness of breath, cough, body aches, weakness, loss of taste, loss of appetite, headache. The most common comorbidities noted in our study were: diabetes mellitus, hypertension, obesity, heart disease, respiratory disease, kidney disease and liver disease. The variants identified were the following in Guinea: 20I (Alpha, V1), 20B, 20D, 20A, 19B, in Mali: 21D (Eta), 19B.

**Keywords :** Mali, Guinea, SARS-CoV-2, sequencing.

## **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 !***