

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU MALI

Un peuple- un but- une foi



UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO



FACULTE DE PHARMACIE

USTTB

FAPH

ANNEE UNIVERSITAIRE 2022-2023

N° _____ /

THESE

**EVALUATION DE LA PERFORMANCE DES
TESTS TDR-VIVADIAG™ PAR RAPPORT A LA
PCR OneStepPlus® DANS LE DIAGNOSTIC DU
SARS-COV-2.**

Présentée et soutenue publiquement le 17 /07 /23 devant la faculté

de Pharmacie pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN PHARMACIE (DIPLOME D'ETAT)

Par

M. Cheick Oumar DIARRA

JURY

Président du jury : Professeur Ababacar MAIGA

Membres : Professeur Aminata MAIGA

Professeur Garan DABO

Co-directeur de thèse : Docteur Youssouf DIARRA

Directeur de thèse : Professeur Ousmane KOITA

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2021-2022

ADMINISTRATION

Doyen : Boubacar TRAORE, Professeur

Vice-Doyen : Sékou BAH, Maître de conférences

Secrétaire principal : Seydou COULIBALY, Administrateur civil Agent

comptable : Ismaël CISSE, Contrôleur des Finances.

PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
2	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologue
3	Mahamadou	CISSE	Biologie
4	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
5	Souleymane	DIALLO	Bactériologie - Virologie
6	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
7	Ousmane	DOUMBIA	Législation
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	Sékou	TRAORE	Zoologie

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
4	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
5	Alassane	DICKO	Santé Publique
6	Abdoullaye	DJIMDE	Parasitologie-Mycologie
7	Amagana	DOLO	Parasitologie – Mycologie
8	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique / Nutrition
9	Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire

10	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie
----	----------	--------	-------------------------

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRES DE RECHERCHE

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

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
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	Aminata	KONE	Biologie moléculaire
15	Birama Apho	LY	Santé publique
16	Almoustapha Issiaka	MAÏGA	Bactériologie-Virologie
17	Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
18	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
19	Oumar	SANGHO	Epidémiologie

3. ASSISTANTS/ATTACHES 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. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE

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

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES 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. ASSISTANTS/ATTACHES 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 MÉDICAMENT

1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
2	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie Chef de DER

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES 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. ASSISTANTS/ATTACHES 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. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE

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

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

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

Evaluation de la performance des tests TDR-VivaDiag™ par rapport à la PCR OneStepPlus® dans le diagnostic du SARS-CoV-2.

1	Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
3	Boureima	KELLY	Physiologie médicale

4. ASSISTANTS/ATTACHES 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	Psychologue
4	Yacouba	COULIBALY	Droit commercial
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Moussa I	DIARRA	Biophysique
7	Babacar	DIOP	Chimie
8	Aboubakary	MAÏGA	Chimie organique
9	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
10	Modibo	SANGARE	Anglais
11	Satigui	SIDIBE	Pharmacie vétérinaire
12	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
13	Fana	TANGARA	Maths
14	Djénébou	TRAORE	Sémiologie/Pathologie médicale
15	Mamadou B	TRAORE	Physiologie
20	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

DEDICACE ET REMERCIEMENTS

La présente réflexion scientifique, bien que s'inscrivant dans le sillage des écrits d'un débutant en recherche, reste également le produit d'une conjonction d'exhortation, d'encouragement et d'assistance de la part de certaines personnes à l'endroit desquelles nous adressons notre profonde et sincère gratitude. Dans l'impossibilité de les énumérer toutes ici.

Nous dédions cette thèse à **DIEU** Le Tout Puissant, Le Tout Miséricordieux, Le Tout Clément ; Qui nous a permis de voir ce jour. Alhamdoulilaahi Rabil Aalamina. Pour m'avoir donné la force et le courage pour la réalisation de ce travail. Cet aboutissement introduit un autre chapitre dans notre vie.

Nos remerciements et profondes reconnaissances vont à énormément de personnes et groupes qui nous ont servi de locomotive et de guide durant ce voyage.

- **A notre père, Feu Amadou DIARRA**

Nous prions pour le repos éternel de votre âme en paix ainsi que pour tous nos illustres disparus. Nous vous seront toujours reconnaissants pour tout. Nous sommes particulièrement fiers de l'éducation et de la rigueur dont nous avons bénéficié. Merci pour tout cher papa. Dors en paix.

- **A notre mère, Dédeou Moussa TRAORE**

Merci pour vos encouragements, vos bénédictions et votre patience. Par la grâce de Dieu, nous sommes aujourd'hui sur le point de soutenir. C'est l'aboutissement d'un cursus pour lequel nous vous serons toujours reconnaissants. Nous vous souhaitons longue et heureuse vie à nos côtés.

- **A notre femme : Maiya CISSE**

Merci pour la compréhension et le soutien

- **A nos frères, soeurs, cousins et cousines : Albatoure TOURE, Hamadoun, Amir, karamoko DIARRA, Amadou, Adama, Mahamane TOURE, Abdoulaye DICKO**

Vous avez contribué chacun à sa manière à ce que nous atteignons cette étape. Je vous dis Merci.

- **A nos enseignants** de l'école B de Diré, de Goundam, nos enseignants du lycée Mahamane Alassane HAIDARA de Tombouctou (LMAHT) ainsi qu'à nos enseignants de la faculté de Pharmacie de l'USTTB.

- **A nos Tantes : Rabiadou MAIGA et feu Ramata DIAKITE**

Votre soutien moral et financier m'ont permis de réaliser cet ouvrage. C'est le lieu de réitérer toute ma reconnaissance.

- **A nos Tontons : Papa TOURE, Arsike MAIGA, feu Dramane DIARRA**

Tous mes respects.

- **A nos amis : Dr Ousmane Coulibaly, Dr Ousmane Ouattara, Kaba FAKINA, Dr Ibrahim T. Touré, Ousmane Issoufou, Dr Abdoul Wahid, Dr Idrissa Bouaré, Dr Hamma Toure, Dr Youssouf Bilal**

Merci pour vos amitiés et soutiens de tous les jours.

- **A notre grand-père : Alassane Sabane MAIGA**

Recevez ce travail comme les prémices de la récolte de vos longues années de travail, de sacrifice, de jeûne et de prière. Que Dieu te le revaudrai à sa mesure.

- **Mes camarades et amis de promotion**, je m'en voudrais de ne pas vous témoigner ma profonde gratitude. Recevez mes salutations pour ses moments inoubliables passés ensemble.
- **À toute l'équipe du LBMA : Dr Alpha Diallo, Dr Modibo Telly, Dr Nouhoum Thiam, Dr Saly Ibrahim Keita, Fadima Roumba** ainsi que tous les autres ; sans vous, cette thèse ne serait pas ce qu'elle est aujourd'hui. Vous avez tous participé à sa réalisation de par vos conseils et vos encouragements. Merci pour votre gentillesse et votre disponibilité. Recevez ici mes sincères salutations ainsi que ma reconnaissance.

Tous ceux qui ont participé à la réalisation de ce document, un merci profond et que Dieu vous comble de toutes ses grâces.

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY :

Professeur Ababacar MAIGA

- **Ancien directeur général adjoint de l'institut national de recherche en Santé Publique**
- **Professeur titulaire de toxicologie à la Faculté de pharmacie de Bamako**
- **Ancien vice Doyen de la faculté de pharmacie de Bamako**
- **Ancien directeur général adjoint de la direction de la pharmacie et du médicament.**

Monsieur le Président

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury

Vos qualités de pédagogue, votre rigueur scientifique, votre accueil toujours courtois et affectif, votre modeste et votre disponibilité font de vous un maître respecté et admirable.

Veillez recevoir cher maître, toute notre considération et notre profonde gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Professeur Aminata MAIGA

- **Maitre-assistante de Bactériologie-virologie à la FMOS de l'Université des sciences des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB)**
- **Chef de service du Laboratoire de Biologie médicale et de l'hygiène hospitalière**
- **Membre du groupe de coordination multisectorielle pour la lutte contre la résistance antibactérienne (RAM)**
- **Praticienne hospitalière au CHU du point G**

Votre rigueur scientifique, votre disponibilité, votre souci du travail bien fait et votre faculté d'écoute a forcé notre admiration. Vous nous avez reçus avec beaucoup d'amabilité et simplicité. Soyez rassuré honorable maître de notre profonde reconnaissance.

Que Dieu vous donne une longue et heureuse vie !

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Professeur Garan DABO

- **Spécialiste en Maladies infectieuses et tropicales**
- **Certifié en épidémiologie**
- **Membre de la SAPI**
- **Membre de la SOMARAM**
- **Membre de l'Association Marocaine de lutte contre les Maladies Auto-immunes**

Cher maitre Votre disponibilité constante, votre modestie, votre rigueur scientifique dans le travail bien fait font de vous un maitre respecté et admiré. Trouver ici cher maitre l'expression de notre profonde reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET CO-DIRECTEUR

Docteur Youssouf DIARRA

- **Pharmacien ;**
- **Titulaire d'un master en santé publique**
- **Chef d'unité de parasitologie au LBMA**

Permettez-nous de vous adresser nos remerciements les plus sincères.

Vous nous aviez été accessible, du début de ce travail jusqu'à la fin.

Votre modestie et votre ouverture au monde des apprenants vous procurent respect et considération.

Que Dieu vous donne une longue et heureuse vie !

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Professeur Ousmane KOITA

- **Pharmacien Biologiste (PharmD, PhD)**
- **Professeur Titulaire en Biologie moléculaire**
- **Chargé de cours de biologie cellulaire et moléculaire à la faculté de Pharmacie**
- **Ancien Directeur-Adjoint du SEREFO**
- **Responsable du Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée de la Faculté des Sciences et Techniques (FAST).**
- **Charge de cours de Biologie Moléculaire à la FAST.**

Cher Maître,

Nous avons été très séduits par votre conviction pour la recherche, votre disponibilité et la qualité de votre enseignement.

Vous nous avez accueillis les bras ouverts au LBMA, initié à la recherche et dirigé les travaux de notre thèse, ce qui fait de ce travail, le vôtre !

Que LE TOUT PUISSANT vous accorde la santé et la longévité dans la recherche scientifique afin que d'autres générations d'étudiants puissent bénéficier de la qualité de votre enseignement.

Que Dieu vous donne une longue et heureuse vie !

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

Ac	Anticorps
ACE	Angiotensine-Converting Enzyme
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	Antigène
ARN	Acide ribonucléique
AW	Wash Buffer
CDC	Centers for Disease Control and Prévention
COVID-19	Coronavirus 2019
CRP	Protéine de réaction C
Ct	Seuil de cycle
DAA	Direct-acting antiviral
dNTP	Désoxyribonucléotide triphosphate
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FAM	6-carboxy-fluorocein
FN	Faux Négatives
FP	Faux Positifs
HIF-1	facteur 1 inductible par l'hypoxie
HTA	Host-targeting antiviral
INSP	Institut National de la Santé Publique
IgA	Immunoglobulines A
IgG	Immunoglobulines G
IgM	Immunoglobulines M
LBMA	Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée
MERS-CoV	Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	Polymerase chain reaction ou réaction de polymérisation en chaîne
SARS-CoV-2	Syndrome Aigue Respiratoire Sévère à Corona Virus
SDRA	Syndrome de détresse respiratoire Aigue
Se	Sensibilité
S Gène	Gène de la protéine du pic
Sp	Spécificité
TAAN	Tests d'Amplification des Acides Nucléiques
TACE	TNF α -converting enzyme
TDR	Test de Diagnostic Rapide
TAMRA	6-carboxy-tetramethyl-rhodamine
TMPRSS2	transmembrane serine protease 2
TROD	Test Rapide d'Orientation Diagnostique
RAAS	rénine angiotensine aldostérone
RBD	Receptor Binding Domain
RdRp	Gène de l'ARN polymérase ARN-dépendante
RT-PCR	Reverse-Transcriptase Polymerase-Chain-Reaction
VP	Vrais Positives
VN	Vrais Négatives
VPP	Valeur prédictive positive
VPN	Valeur prédictive négative

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Répartition des cas de décès selon les régions du Mali avant le 05 juin 2022.	6
Tableau II : Structure du SARS-CoV-2.	8
Tableau III : Composants pour la RT-PCR en une étape.	36
TABLEAU IV : LES CONDITIONS D'AMPLIFICATION PAR LA TECHNIQUE DE PCR.	37
TABLEAU V : MODALITE DE CALCUL DE LA PERFORMANCE DU TDR-AG.	43
Tableau VI : Répartition des patients selon le sexe (N=133)	45
Tableau VII : Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge (N=133)	45
Tableau VIII : Répartition des patients en fonction de l'adresse (N=133)	46
Tableau IX : Répartition des patients selon l'activité menée (N=133)	46
Tableau X : Répartition des patients selon le statut vaccinal.	48
Tableau XI : Répartition des résultats TDR-Ag en fonction de la tranche d'âge (N=133)	48
Tableau XII: Statut vaccinal et les résultats RT-PCR (N=133)	49
Tableau XIII : Positivité du test antigénique rapide et RT-PCR.	49
Tableau XIV : Modalité de calcul de la Performance du TDR-Ag.	49
Tableau XV : Disposition des données pour le calcul des paramètres de performance	50
Tableau XVI : Pourcentage de concordance entre les résultats de TDR-Ag et la RT-PCR.	51
Tableau XVII : Degré d'accord et valeur de Kappa proposé par Landis et Koch.	44

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition Mondiale Du Covid A La Date Du 25 Juin 2022.....	5
Figure 2: Arbre Phylogénétique Et La Structure Génomique Des Coronavirus.	7
Figure 3: Cycle De Réplication Du SARS-Cov-2.	11
Figure 4 - Effet Cytopathogène Du Virus SARS-Cov-2.....	12
Figure 5: Mécanismes Physiopathologiques Du SARS-COV-2.....	16
Figure 6: Mécanismes Proposés De La Coagulopathie De La COVID-19.....	17
Figure 7 : Mécanismes Suspectées De La Réaction Immunitaire Dans L'infection Par Le SARS-Cov-2.	18
Figure 8 : Réponse Immunitaire Du SARS-Cov-2.....	19
Figure 9 : Phase D'évolution De L'infection A SARS-Cov-2.	20
Figure 10 : Position Correcte De La Tête Du Patient Lors De La Réalisation D'un Prélèvement Nasopharyngé.....	24
Figure 11: Les Etapes De La RT-PCR.	26
Figure 12 : Exemple De Courbe D'amplification D'un Echantillon Positif.....	27
Figure 13 : Exemple De Courbe D'amplification D'un Echantillon Positif.....	27
Figure 14 : Exemple De Courbe D'amplification D'un Echantillon Positif.....	27
Figure 15 - Illustration D'un Test Immunochromatographique.....	28
Figure 16 : Cinétique Des Marqueurs Virologiques Au Cours De L'infection A SARS-Cov-2.....	29
Figure 17 : Étapes De Réalisation Du TDR.....	33
FIGURE 18: REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA RT-PCR 1 ETAPE	38
Figure 19 : Dispositif steponeplus™ 96 puits au LBMA.	41
Figure 20 : Large gamme dynamique.	42
FIGURE 21-(A) : Analyse De La Courbe De Fusion.....	42
Figure 22(B) : Essai Multiplex. Essais Taqman Multiplex Sur Le Système Steponeplus.	42
Figure 23: Répartition des patients en fonction des résultats TDR-Ag (N= 133)	47
Figure 24 : Image du test TDR-Ag.....	35
Figure 25: Répartition des patients en fonction des résultats RT-PCR (N= 133).....	47

TABLE DES MATIERES

1.	INTRODUCTION.....	1
2.	OBJECTIFS	3
2.1.	OBJECTIF GENERAL	3
2.2.	OBJECTIFS SPECIFIQUES	3
3.	GENERALITES	4
3.1.	DEFINITIONS DES TERMINOLOGIES	4
3.2.	EPIDEMIOLOGIE.....	4
3.2.1.	La distribution mondiale	4
3.2.2.	La situation au Mali	5
3.3.	AGENT PATHOGENE	6
3.3.1.	Classification	6
3.3.2.	Nomenclature	7
3.3.3.	Morphologie du virion	7
3.3.4.	Génome du SARS-CoV-2.....	8
3.3.5.	Cycle de multiplication du SARS-CoV-2	9
3.3.6.	Réservoir	11
3.3.7.	Modes de transmission du SARS-CoV-2.....	11
3.3.8.	Culture du virus	12
3.3.9.	Durée d'incubation	13
3.3.10.	Contagiosité.....	13
3.3.11.	Taux de létalité.....	13
3.3.12.	La prévention	14
3.3.12.1.	Les moyens de prévention dans la population générale	14
3.3.12.2.	Moyens de prévention chez les personnes à risque de formes graves	14
3.3.12.3.	Moyens de prévention pour les professionnels de santé.....	15
3.3.12.4.	Mesures complémentaires.....	15
3.4.	PHYSIOPATHOLOGIE	16
3.4.1.	Toxicité virale directe.....	16
3.4.2.	Domages aux cellules endothéliales et thrombo-inflammation	16
3.4.3.	La réponse immunitaire à SARS-CoV-2	17
3.4.3.1.	Mécanisme de la réponse immunitaire.....	17
3.4.3.2.	Réponse humorale.....	18
3.5.	DIAGNOSTIC DU COVID-19	19
3.5.1.	Diagnostic clinique	19
3.5.1.1.	Présentation clinique	20
3.5.1.2.	Formes symptomatiques.....	20
3.5.1.3.	Formes cliniques du COVID-19.....	20
3.5.2.	Facteurs de risques de forme grave.....	21
3.5.3.	Diagnostic biologique	21
3.5.3.1.	Eléments d'orientation	22
3.5.4.	Diagnostic virologique de confirmation	22
3.5.4.1.	RT-PCR.....	23
3.5.4.1.1.	Etape pré analytique	23
3.5.4.1.2.	Etude analytique	24
3.5.5.	Test Sérologique	27
3.6.	TRAITEMENT	29
4.	METHODOLOGIE	31
4.1.	LIEU DE L'ÉTUDE.....	31
4.2.	TYPE D'ÉTUDE.....	32
4.3.	POPULATION D'ÉTUDE.....	32
4.4.	CRITÈRES D'INCLUSION.....	32
4.5.	CRITÈRES DE NON INCLUSION	32
4.6.	ECHANTILLONNAGE	32
4.7.	COLLECTE DE DONNÉES	32
4.8.	LA RECEPTION DES PRELEVEMENTS AU LABORATOIRE	32
4.9.	PRESENTATION DES METHODES	33
4.9.1.	Le Test de Diagnostic Rapide(TDR).....	33
4.9.2.	Polymerase Chain Reaction (PCR)	35
4.10.	ANALYSES MOLÉCULAIRES	35
4.10.1.	Extraction de l'ARN du SARS-Cov-2	35
	TABLEAU IV : LES CONDITIONS D'AMPLIFICATION PAR LA TECHNIQUE DE PCR.....	37
4.10.2.	StepOne™ et StepOnePlus™.....	37
4.10.2.3.	Validité expérimentale.....	38

Evaluation de la performance des tests TDR-VivaDiag™ par rapport à la PCR OneStepPlus® dans le diagnostic du SARS-CoV-2.

4.10.2.4.	Description du dispositif.....	39
4.11.	ANALYSES STATISTIQUES	43
4.12.	ASPECTS ÉTHIQUES	43
4.13.	CRITÈRES À ÉVALUER	43
4.13.1.	Validités intrinsèques et prédictives des tests.....	43
4.13.2.	Fiabilité du test.....	44
5.	RESULTATS.....	45
5.1.	DESCRIPTION SOCIODEMOGRAPHIQUE DES PATIENTS	45
5.2.	VARIABLE BIOLOGIQUE DU TDR-AG ET DE LA PCR	47
5.3.	CALCUL DES PARAMETRES DE PERFORMANCE :	49
5.3.1	Sensibilité (Se).....	50
5.3.2.	Spécificité(Sp).....	50
5.3.3.	Valeur Prédictive Positive(VPP).....	50
5.3.4.	Valeur Prédictive Négative	50
5.4.	PARAMÈTRES DE CONCOMITANCE DES TESTS:	51
6.	COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS.....	52
7.	CONCLUSION.....	55
8.	RECOMMANDATIONS	56
9.	REFERENCES.....	57
10.	ANNEXES	61

1. INTRODUCTION

La maladie à Coronavirus est une pathologie infectieuse émergente de type anthroponose causée par la souche de coronavirus SARS-CoV-2, dont sa transmission est interhumaine principalement par les gouttelettes respiratoires. Cette maladie reste le sujet d'actualité dans le monde [1]. Les premiers cas d'infection par ce nouveau virus à tropisme initialement respiratoire ont été identifiés en Chine, à Wuhan en décembre 2019. Au début du mois de janvier 2020, un nouveau virus, appelé Sars-Cov-2 a été isolé à partir d'échantillon de liquide de lavage bronchoalvéolaire dénommé alors coronavirus. L'épidémie de COVID-19 s'est étendue en quelques semaines dans le monde entier [2].

Le 30 janvier 2020, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a déclaré l'épidémie de SARS-CoV-2 comme une urgence de santé publique de portée internationale. Le nombre de décès officiels ne représenterait qu'un décompte minoré du nombre total de morts dus à la pandémie et à ses conséquences sanitaires, selon une étude de l'OMS. Ainsi, pour les années 2020 et 2021, la mortalité liée directement ou indirectement au COVID-19 s'élèverait à environ 15 millions dans le monde, soit trois fois le chiffre officiellement annoncé. Et l'Afrique ne fait pas exception. Sur la période, le nombre d'Africains décédés du COVID s'élèverait à 1,24 million selon l'OMS, soit cinq fois plus que les 229 197 morts officiellement répertoriés par le bureau africain de l'Union africaine (CDC). De nombreux décès attribuables au COVID-19 ont échappé aux statistiques parce qu'aucun test n'a été effectué avant ou après le décès [3].

Au Mali, selon le rapport situation COVID-19 publié le 05 juin 2022 par le Ministère chargé de la santé et du développement social fait le Cumul de cas confirmés depuis le début de l'épidémie estime à 31 110 cas et 735 décès soit une létalité globale de 2,36 % [période du rapport du 30 mai au 05 juin 2022] [4].

Le plus souvent, l'infection à SARS-CoV-2 est responsable d'une forme bénigne ou modérée, dont la présentation clinique la plus typique est celle d'une infection respiratoire fébrile avec toux sèche, dyspnée, fatigue et myalgies [1]. Environ 10-15 % des cas sont graves et 5% sont critiques, avec un taux de mortalité inférieur à 3%. Des cas de réinfection ont été décrits. Le traitement du COVID-19 est jusqu'à maintenant symptomatique, reposant aussi sur des soins de soutien [1].

En septembre 2020, l'OMS a publié ses premières orientations provisoires sur le rôle que peuvent jouer les TDR de détection des antigènes (TDR-Ag) dans le diagnostic de la Covid-19 (Détection des antigènes à l'aide de tests immunologiques rapides pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2) et qui ont mis l'accent sur la sélection rigoureuse à laquelle ces tests doivent être soumis [5]. Le diagnostic de l'infection virologique de la COVID-19 repose principalement sur la détection du génome viral dans les sécrétions naso- ou oro-pharyngées, au stade précoce de l'infection, et pulmonaires profondes dans les formes graves. Les tests rapides moléculaires et antigéniques trouvent surtout leur place dans les situations d'urgence et dans le cadre des dépistages de sujets peu ou asymptomatiques.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, le test de référence reste la Réaction Polymérase en Chaîne (PCR) mais compte tenu de la complexité de la mise en œuvre de cette technique, il est important de proposer des TDR qui soient fiables, suffisamment sensibles et spécifiques pour réduire au maximum les risques de passer à côté d'un cas positif [6]. Ces TDR donnent des résultats en 15 minutes. Il existe actuellement au Mali très

Evaluation de la performance des tests TDR-VivaDiag™ par rapport à la PCR OneStepPlus® dans le diagnostic du SARS-CoV-2.

peu de tests de diagnostic rapide et pour la grande majorité d'entre eux, ils n'ont pas fait l'objet d'une évaluation à l'échelle nationale avant leur entrée sur le territoire. L'évaluation diagnostique de ces tests constituait une urgence vue le niveau d'organisation des systèmes de santé de nos pays.

Du fait de ces limites, disposer d'outils de détection plus rapide et/ou reposant sur un mode de prélèvement plus acceptable apparaît un enjeu important.

L'objectif de notre étude est d'évaluer les performances diagnostiques des tests antigéniques: VivaDiag™ comparés à celles de la PCR OnestepPlus™ SARS-CoV-2.

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

Evaluer la performance des tests TDR-VivaDiag™ par rapport à la PCR OnestepPlus™ comme technique de référence dans le diagnostic du SARS-CoV-2.

2.2. Objectifs spécifiques

- Déterminer la validité (sensibilité ; spécificité) du TDR- VivaDiag™ dans le diagnostic du SARS-CoV-2.
- Déterminer les valeurs prédictives (VPP ; VPN) et valeurs de concordance Kappa du TDR-VivaDiag™ de la compagnie Vivachek® pour le diagnostic du SARS-CoV-2 dans le contexte Malien.

3. GENERALITES

3.1. Définitions des terminologies

- SARS-CoV-2

Le virus SARS-CoV-2 est un virus enveloppé à ARN positif qui appartient à la famille des *Coronaviridae*, à la sous-famille des *Coronavirinae*, au genre *Betacoronavirus* et au sous-genre *Sarbecovirus*. Comme le SARS-CoV, le SARS-CoV-2 est un virus de chauve-souris qui s'est adapté à l'homme selon des modalités qui restent encore à élucider[7]. L'ARN viral, d'une longueur d'environ 30 000 nucléotides, code notamment une volumineuse ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp pour RNA-dependent RNA polymerase) et plusieurs protéines structurales dont une glycoprotéine de surface (S pour Spike protein ou protéine de spicule) responsable de l'aspect couronné du virus observé en microscopie électronique, une glycoprotéine d'enveloppe E, une protéine de membrane M et une protéine de nucléocapside N qui s'enroule de façon hélicoïdale autour de l'ARN viral.

- **TDR-Ag:** Tests de diagnostic rapide (TDR) basés sur la détection d'antigènes

Ces tests permettent de détecter la présence de protéines virales (antigènes) exprimées par le virus du COVID-19 grâce à un échantillon issu de la muqueuse bucco-pharyngée ou la paroi du nez d'une personne infectée. Les tests de détection d'antigènes ne sont efficaces que si le virus, et donc les protéines virales, sont présents en quantité suffisante dans l'échantillon pour se lier aux anticorps spécifiques contenus dans le test. L'antigène n'est détecté que si le virus se multiplie, ces tests peuvent donc identifier une infection précoce ou aiguë. Toutefois, de nombreux facteurs peuvent influencer les résultats, créant un champ de sensibilité et de spécificité en fonction du test utilisé [8].

Ces tests peuvent être effectués sur le lieu des soins et donnent un résultat en 15 à 30 minutes.

- **PCR :** Réaction en chaîne par polymérase en temps réel après transcription inverse (RT-PCR)

Ce test sert à identifier le matériel génétique viral (ARN) en examinant des échantillons biologiques pour trouver un modèle correspondant à la séquence d'ARN de l'agent pathogène à identifier, puis en l'amplifiant pour le quantifier. Il peut être utilisé comme test qualitatif (positif ou négatif) et comme test quantitatif, indiquant non seulement la présence du virus, mais aussi sa charge virale. Pour le COVID-19, les échantillons sont prélevés généralement à l'aide d'un tampon frotté contre la muqueuse bucco-pharyngée ou la paroi du nez. Ils sont ensuite analysés en laboratoire par le personnel qualifié à l'aide d'équipements spécifiques. Les résultats sont généralement disponibles en quelques heures.

3.2.Epidémiologie

3.2.1. La distribution mondiale

A la fin de l'année 2019, le SARS-CoV-2 a causé un groupe de cas de pneumonie à Wuhan, une ville chinoise, dans la province chinoise de Hubei. Le 30 janvier, l'épidémie a été déclarée comme urgence de santé publique de portée internationale (USPPI) par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et plus tard déclarée comme pandémie mondiale. La maladie progressivement saisie le monde entier ; l'épicentre de pandémie a changé plus tard de la ville de Wuhan vers l'Europe et l'USA, et qui sont les pays les plus durement touchés par l'épidémie. En 10 juin 2022, l'OMS a rapporté que le total mondial des nouveaux cas et des décès jusqu'à ce jour est de 532 201 219 cas positif et 6 305 358 personnes sont décédés [2]. La plupart des cas de COVID-19 et des décès dus à cette maladie surviennent en Amérique suivi par l'Europe puis l'Asie du Sud-Est. Aux

Evaluation de la performance des tests TDR-VivaDiag™ par rapport à la PCR OneStepPlus® dans le diagnostic du SARS-CoV-2.

états unis, le premier cas a été identifié en Amérique du Nord remonte au 22 janvier ; depuis la propagation s’est accélérée et jusqu’à maintenant, 84 292 712 personnes ont contracté le virus et 1 000 850 personnes sont décédées.

Le 24 janvier, l’Europe identifie trois premiers cas. Il s’agit de trois Français ayant séjourné à Wuhan ; depuis le s’est propagé dans une majorité des pays du continent européen eu 222 417 177 cas confirmés et 2 017 896 décès dont la France est le pays qui recense le plus de cas et de décès suivi par l’Espagne et l’Italie, Toutefois, l’Afrique représentait un pourcentage de 2.35 % soit 9 039 645 cas confirmé positif et 172 980 cas décédés. La distribution actuelle du Covid-19 dans le monde est montrée dans la figure 1.

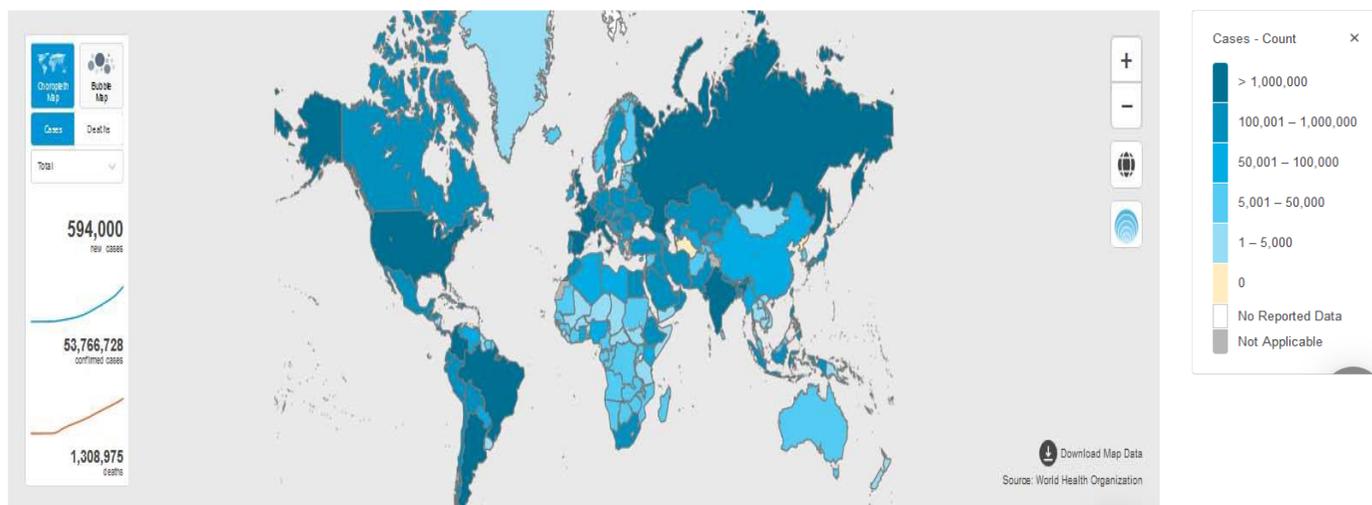


Figure 1 : Répartition mondiale du Covid à la date du 25 juin 2022 [9].

3.2.2. La situation au Mali

Au cours de la treizième semaine 2020 (24 Mars 2020), deux (2) cas suspects non suivis de décès de Covid-19 ont été notifiés par la région de Koulikoro, district sanitaire de Kalanban-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 [4].

Jusqu’au 05 juin 2022, le Mali a enregistré sept cent trente-cinq (735) décès sur les 31 110 cas actifs répartis comme suit :

Tableau I : Répartition des cas de décès selon les régions du Mali avant le 05 juin 2022.

Régions	Cas confirmés	Décès	Létalité %
Kayes	1 767	4	0,2
Koulikoro	5 016	11	0,2
Sikasso	1 325	17	1,3
Ségou	478	5	1,0
Mopti	884	38	4,3
Tombouctou	728	10	1,4
Gao	200	8	4,0
Kidal	162	0	0,0
Taoudéni	02	0	0,0
Ménaka	06	0	0,0
District de Bamako	20542	642*	3,1

* Ecart s'explique par le fait que certains cas de décès enregistrés à Bamako sont des cas provenant d'autre région [4].

3.3. Agent pathogène

3.3.1. Classification

Le SARS-CoV-2 est un virus à ARN classé selon le schéma taxonomique suivant :

- Domaine : *Riboviria*.
- Ordre : *Nidovirales*.
- Sous ordre : *Cornidovirineae*.
- Famille : *Coronaviridae*.
- Sous famille : *Orthocoronavirinae*.
- Genre : *Béta coronavirus*.
- Sous genre : *Sarbecovirus*.
- Espèce : SARS-CoV.

A noter que la sous-famille des *Orthocoronavirinae* se divise en 4 genre distincts : les Coronavirus-alpha, -beta, -gamma et -delta. (Figure 2).

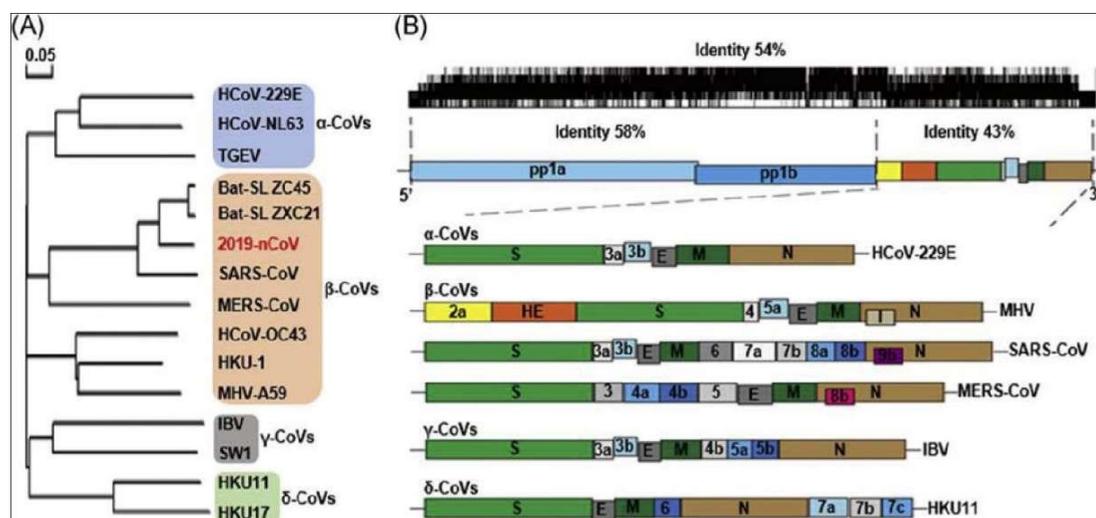


Figure 2: Arbre phylogénétique et la structure génomique des coronavirus [10].

Les Orthocoronavirinae sont divisés en 4 genres, les alphas, beta, gamma et delta Coronavirus. Six souches de Coronavirus infectent l'Homme, les souches HCoV-229E, -NL63, HKU1, -OC43 ainsi que les souches MERS-CoV et SARS-CoV.

3.3.2. Nomenclature [11]

Le nom « coronavirus » vient des projections en forme de couronne sur leurs surfaces.

« Corona » en latin signifie « halo » ou « couronne ».

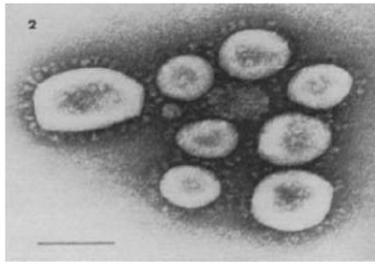
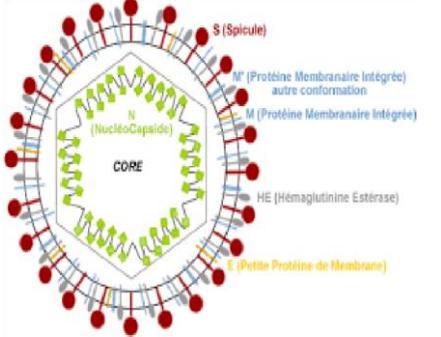
D'abord dénommé « coronavirus de Wuhan » puis « nouveau coronavirus 2019 » (2019nCoV), son nom officiel SARS-CoV-2 a été choisi le 11 février 2020 par l'International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), conformément à ses recommandations générales en cas d'émergence épidémiologique. La forme longue en français de l'acronyme SARS-CoV-2 est désignée par l'OMS « coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère », tandis que l'Office québécois de la langue française la désigne « coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2 » [12].

Simultanément, l'OMS donne à la maladie liée au virus le nom officiel de « maladie à coronavirus 2019 » (COVID-19, de l'anglais coronavirus disease 2019) qui avant était informellement dénommée « pneumonie de Wuhan ».

3.3.3. Morphologie du virion

Le SARS-CoV-2 est un virus enveloppé qui présente une forme ronde elliptique et souvent pléomorphe [10]. Les particules virales font 60-220 nm de diamètre, comprend la nucléocapside, hélicoïdale, formée de la protéine de capsid (N) complexée à l'ARN viral, est protégée par une enveloppe phospholipidique dans laquelle sont enchâssées les glycoprotéines de surface (S, HE, M et E). La protéine S est la protéine qui lie le répéteur cellulaire du SARS-CoV-2 (ACE2) et permet l'entrée dans la cellule. Elle est formée de deux sous-unités : S1 qui contient le domaine de liaison au récepteur cellulaire, et S2 qui est essentiel pour la fusion du virus à la membrane cellulaire [11,13].

Tableau II : Structure du SARS-CoV-2 [1].

Photographie en microscopie électronique.	Représentation tridimensionnelle.	Schéma de la particule virale.
		

3.3.4. Génome du SARS-CoV-2[14–16]

C'est le plus grand des virus à ARN, leur génome est constitué d'un ARN linéaire simple brin, non segmenté, de polarité positive, d'environ 27-32kb codant pour 9860 acides aminés.

Le génome des CoV comporte un nombre variable de cadres de lecture ouverts(ORF). Le tiers restant du génome code pour les protéines de structure et des protéines accessoires, dont la glycoprotéine(S), la protéine de l'enveloppe (E), la protéine matricielle (M) et la protéine nucléocapside (N), ainsi que plusieurs protéines accessoires, qui interfèrent avec la réponse immunitaire de l'hôte (héماغglutinine estérase). Chan et al ont prouvé que le génome du nouveau HCoV, isolé d'un groupe de patients atteints de pneumonie atypique après avoir visité Wuhan, avait 89% d'identité nucléotidique avec la chauve-souris SARS-like-CoVZXC21 et 82% avec celle du SARS-CoV humain. Pour cette raison, le nouveau virus a été appelé SARS-CoV-2. La majorité des protéines codées génomiquement du SARS CoV-2 et du SARS-CoV étaient similaires, à l'exception de quelques différences dans certaines substitutions d'acides aminés dans les domaines de liaison aux récepteurs NSP2, NSP3, aux protéines de pointe et aux récepteurs [17,18].

La protéine N est une nucléoprotéine s'associe à l'ARN pour former la nucléocapside. La protéine M est la protéine majoritaire de la capsid, mais elle est également insérée dans l'enveloppe où elle interagit avec la protéine S, et présente au niveau de la nucléocapsid où elle interagit avec la protéine N.

La protéine S, comme pour la protéine E, est une protéine de l'enveloppe, glycoprotéine de grande taille, elle forme des extensions (spicules) à la surface de la particule virale et est responsable de l'attachement à la cellule hôte et de la fusion membranaire lors de l'infection, ainsi que de l'induction d'anticorps neutralisants. La protéine M' serait une protéine M modifiée. Le gène de la réplicase code pour une protéine présumptive de 740 à 800 kDa qui présente des homologues de séquence avec diverses protéines (protéases, ARN polymérase dépendante de l'ARN, facteur de croissance et protéine à doigt de zinc).

L'étude de Wu et al a révélé une similitude génomique et phylogénétique du SARS-CoV-2 avec le Sars-CoV, en particulier dans le genre de la glycoprotéine S le domaine de liaison au récepteur (RBD). Cela indiquait la capacité de transmission directe comme le SARS-CoV selon une autre étude de Aiping Wu, et al [18].

Une étude de Zhang et al a révélé que le SRAS CoV-2 était en train de muter chez différents patients en Chine. Tang et al[19] a effectué une analyse génétique de la population de 103 génomes de COVID-19 et a classé

Evaluation de la performance des tests TDR-VivaDiag™ par rapport à la PCR OneStepPlus® dans le diagnostic du SARS-CoV-2.

deux types courants de COVID, le type L (environ 70%) et le type S (environ 30%). Les souches de type L, dérivées du type S, sont évolutivement plus agressives et contagieuses.

- La S serait la souche la plus ancienne et la moins agressive. Elle serait responsable d'environ 30 % des infections.
- La L serait apparu plus tard et serait plus agressive. Elle se propagerait également plus rapidement. Sa présence aurait cependant tendance à diminuer, peut-être en raison de l'intervention humaine qui aurait exercé, selon les chercheurs, une pression sélective plus sévère sur cette souche.

En termes d'homologie, le SARS-CoV-2 est [20] :

- A 96 % identique à celui de BetaCoV/bat/Yunnan/RaTG13/2013, un coronavirus d'une chauve-souris chinoise du genre Rhinolophe : *Rhinolophus affinis* ;
- A 91 % identique à un coronavirus présent chez les pangolins javanais (99 % localement, pour les 74 acides aminés d'une région particulière de la protéine S qui assure la fixation au récepteur cellulaire ACE2, déterminant pour la spécificité d'hôte) ;
- A 79,5 % identique à celui du SARS-CoV ;
- A 50 % identique à celui du MERS-CoV.

3.3.5. Cycle de multiplication du SARS-CoV-2 [21–23]

Le virus est un pathogène intracellulaire obligatoire, et doit pénétrer dans une cellule hôte pour pouvoir se multiplier (on parle de réplication). La première étape de ce processus est donc l'entrée du matériel viral dans le cytoplasme après avoir franchi la membrane cellulaire. L'étape d'entrée débute par l'attachement de la particule virale à la surface de la cellule. Celle-ci repose sur l'interaction entre les spicules à la surface de la particule virale (protéine S du SARS-CoV-2) et la glycoprotéine angiotensine-convertant enzyme 2 (ACE2) qui agit en tant que récepteur d'entrée (Figure 3).

Le cycle du virus dans la cellule se décompose en trois grandes étapes :

- L'entrée du virus dans la cellule hôte,
- La réplication du génome,
- La formation et la sécrétion de nouveaux virions.

a. L'entrée virale

L'entrée du virus regroupe toutes les étapes allant de son contact avec la cellule hôte jusqu'à la libération de son génome à l'intérieur de la cellule. La capacité des coronavirus, comme pour les autres virus, à entrer dans une cellule hôte pour l'infecter, repose sur la reconnaissance d'un récepteur que celle-ci exprime à sa surface. Dans le cas des coronavirus, c'est la protéine S qui est responsable de la reconnaissance du récepteur cellulaire, souvent une protéine ayant une activité enzymatique. Dans le cas des virus SARS-CoV et SARS-CoV-2, la protéine S utilise comme récepteur l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2, ACE2 (Angiotensin-convertant enzyme2) exprimée, entre autres, à la surface des cellules pulmonaires, des pneumocytes de type II et des macrophages alvéolaires. L'ACE 2 est aussi exprimé par les cellules endothéliales vasculaires du cœur, et intervient dans la régulation de la pression sanguine⁵, ce qui pourrait expliquer le plus haut risque des personnes souffrant de maladies cardio-vasculaires, comme l'hypertension, en cas de COVID-19. Comme l'hémagglutinine du virus de la grippe, la protéine S est une protéine de fusion de type I. Elle présente un

peptide (dit peptide de fusion) qui, au cours des réarrangements conformationnels de la protéine, est inséré dans la membrane de la cellule cible. Les modifications conformationnelles de la protéine qui s'ensuivent permettent alors le rapprochement et la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire, ce qui provoque la formation d'un pore par lequel la nucléocapside, contenant le génome viral, est injectée dans le cytoplasme de la cellule. Les coronavirus utilisent différentes protéases cellulaires pour réaliser ces modifications, multipliant ainsi les possibilités d'activation de la fusion pour garantir la réussite de l'infection. Selon la protéase utilisée, deux voies d'entrée s'offrent au virus. Si certaines protéases sont exprimées à la membrane de la cellule, comme la protéase TMPRSS2 (transmembrane serine protease 2), la fusion sera réalisée directement à la surface de la cellule. Mais en l'absence de telles protéases, le virus sera internalisé dans le cytoplasme par endocytose. L'activation de la fusion entre le virus et l'endosome (la vésicule d'endocytose) qui le contient fera alors intervenir les protéases endosomales, comme les cathepsines ou la furine.

b. Réplication virale

La fusion aboutit finalement à la libération de l'ARN génomique dans le cytoplasme de la cellule infectée. Cet ARN servira de matrice, utilisant la machinerie de traduction de la cellule, pour synthétiser les deux polyprotéines pp1a et pp1ab qui formeront le complexe réplicase-transcriptase après leur maturation. Pp1a code les protéines nsp1 à nsp11, et pp1ab, les protéines nsp1 à nsp16. Ces deux polyprotéines sont clivées grâce aux activités protéasiques de deux protéines différentes, nsp3 et nsp5, produites par auto-clivage. Nsp3 clive les jonctions nsp1-2, nsp2-3 et nsp3-4, tandis que nsp5 clive toutes les jonctions des protéines suivantes. Le complexe réplicase-transcriptase initie ensuite les étapes de réplication successives de l'ARN génomique. Les réplicons ainsi constitués seront encapsulés dans les futurs virions. Le complexe réalisera également la transcription de l'ensemble des ORF codant les protéines structurales et accessoires, sous la forme d'ARN messagers (ARNm) dits « sous-génomiques ». La complexe réplicase transcriptase est ancré dans un réseau membranaire de la cellule infectée, appelé réseau vésiculo-membranaire, qui est dérivé de son réticulum endoplasmique et qui forme des « usines » d'amplification virale. Ce réseau est probablement important pour concentrer les éléments viraux et cellulaires nécessaires à la réplication du virus, mais aussi pour créer un environnement protecteur contre les défenses intracellulaires de l'hôte. La réplication de l'ARN génomique repose sur la synthèse initiale d'un intermédiaire ARN négatif qui sert ensuite de matrice pour la synthèse des ARN génomiques de pleine longueur. Cette synthèse intermédiaire est réalisée par nsp12, une polymérase à ARN dépendante de l'ARN. Contrairement à la réplication de l'ARN génomique qui est un processus de synthèse continue, le mécanisme de transcription est discontinu et caractéristique des Nidovirus. Il aboutit à la synthèse d'ARN sousgénomiques qui codent les protéines accessoires et structurales. Ces ARNm sous-génomiques seront ensuite traduits par la machinerie ribosomale de la cellule hôte.

c. L'assemblage et l'excrétion des virions

Les protéines S, M et E, traduites simultanément, sont ensuite adressées au réticulum endoplasmique de la cellule. Des groupements glycosides sont alors ajoutés aux protéines natives S et M. Celles-ci seront ensuite transportées, par voie vésiculaire, vers le compartiment intermédiaire entre le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi qui est le site d'assemblage des coronavirus. C'est le lieu d'une

Evaluation de la performance des tests TDR-VivaDiag™ par rapport à la PCR OneStepPlus® dans le diagnostic du SARS-CoV-2. multitude d'interactions protéiques et du bourgeonnement des nouvelles particules virales. Cette étape dans l'appareil de Golgi est cruciale pour le bon assemblage des virions. Les virions néoformés seront ensuite sécrétés par exocytose afin d'infecter les cellules environnantes, voire un nouvel hôte, par contamination via les gouttelettes de sécrétions oro-pharyngées dispersées par la toux d'une personne infectée, ou manuportés.

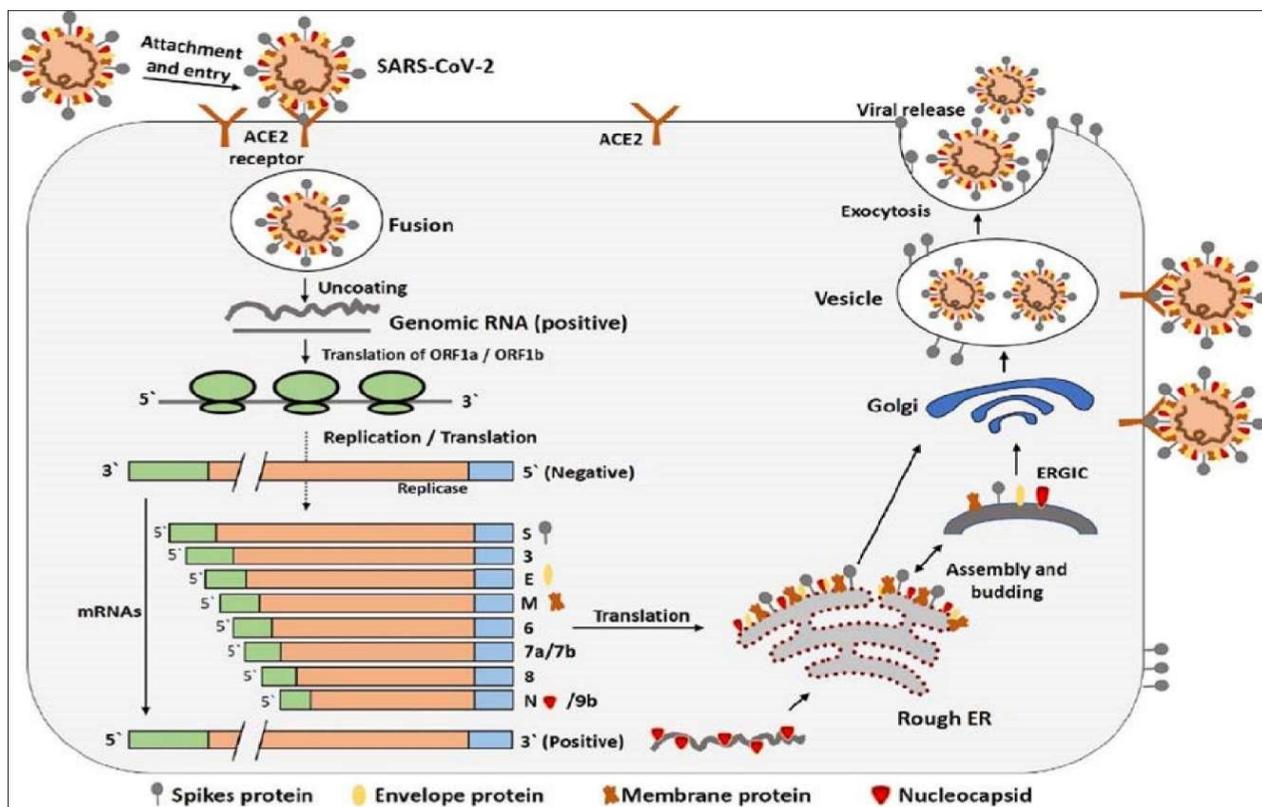


Figure 3: Cycle de réplication du SARS-CoV-2 [23].

3.3.6. Réservoir

D'après l'étude de Rothan, H. A. et al : The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. J. Autoimmun en 2020, L'origine du virus est animal.

C'était dans la conclusion d'une étude publiée Science Advances qui a comparé des génomes de coronavirus de chauves-souris et de pangolins disponibles sur les bases de données publiques avec ceux des trois coronavirus : SARS-CoV, SARS-CoV-2 et le MERS-CoV.

Plusieurs études ont suggéré que la chauve-souris pourrait être le réservoir potentiel du Sars-CoV-2. Toutefois, jusqu'à présent rien ne prouve que l'origine du (2019 n CoV) provienne du marché de fruits de mer de Wuhan. Les chauves-souris sont le réservoir naturel d'une grande variété de CoV, y compris les virus de type Sars-CoV et de type Mers-CoV, étude menée par Francois-Xavier Lescure, et al. Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series.

3.3.7. Modes de transmission du SARS-CoV-2

La transmission interhumaine du virus SARS-CoV-2 a été démontrée en février 2020 après qu'une contamination intrafamiliale ait été rapportée [24].

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.

Evaluation de la performance des tests TDR-VivaDiag™ par rapport à la PCR OneStepPlus® dans le diagnostic du SARS-CoV-2.

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 à plusieurs jours sur des surfaces inertes d'où il peut être transporté par les mains ce qui justifie une bonne hygiène des mains, cela dépend notamment du type de surface (par exemple : cuivre, carton, acier inoxydable, plastique), de la température et de l'humidité ambiante [25]. Des données expérimentales récentes indiquent que le virus pourrait être présent jusqu'à :

- 4 heures sur le cuivre;
- 24 heures sur du carton;
- 48 heures (2 jours) sur de l'acier inoxydable;
- 72 heures (3 jours) sur du plastique.

Jusqu'à présent, la transmission verticale n'a pas été confirmée, cependant plusieurs cas de transmission postnatale ont été rapportés. Par ailleurs, l'isolement d'ARN viral dans le sang et les selles a évoqué la possibilité d'une contamination sanguine ou oro-fécale qui n'a toutefois pas été démontrée à ce jour. La contamination par la muqueuse oculaire pourrait être possible.

3.3.8. Culture du virus

Contrairement à la plupart des virus émergents (virus Zika, virus Ebola, virus Chikungunya...), le SARS-CoV-2 est relativement facile à cultiver sur des lignées cellulaires. Parmi celles-ci, la lignée continue Vero E6, issue de reins de singe vert [26], est particulièrement utilisée (Figure 4). Compte tenu du caractère hautement pathogène de ce virus, il doit être cultivé impérativement dans des conditions de confinement L3. Même si elle est réalisée essentiellement à des fins de recherche dans des laboratoires spécialisés, la culture du virus est néanmoins intéressante pour isoler les nouveaux variants de SARS-CoV-2.



Figure 4 - Effet cytopathogène du virus SARS-CoV-2 [26].

Les cellules Vero E6 arrondies et réfringentes, observées 24 heures post-infection, sont en voie de lyse sous l'effet de l'infection virale (grossissement 200x).

3.3.9. Durée d'incubation

C'est l'intervalle entre la date d'apparition des signes cliniques et la date d'un premier contact potentiel avec un patient suspect ou confirmé Covid-19.

Le délai d'incubation de la COVID-19 est de 3 à 5 jours en général, il peut toutefois s'étendre jusqu'à 14 jours. Pendant cette période, le sujet peut être contagieux : il peut être porteur du virus avant l'apparition des symptômes.

3.3.10. Contagiosité [27]

Le potentiel de contagiosité d'un agent infectieux peut s'évaluer par un indicateur appelé R0 (ou taux de reproduction ou R effectif), correspondant au nombre moyen d'infections secondaires pouvant être générées à partir d'un cas index, dans une population entièrement susceptible d'être infectée, c'est-à-dire qui n'a pas été immunisée contre l'agent infectieux.

Lors du premier mois de l'épidémie en Chine, l'OMS avait estimé le R0 à 2,6 (1,5–3,5). En mars 2020, une méta-analyse montrait que ce R0 était probablement supérieur, estimé à 3,3 (médiane de 2,8 avec un intervalle interquartile à 1-2). La pratique répétée de reverse-transcriptase polymérase-chain-reaction (RT-PCR) sur prélèvements nasopharyngé a montré que la charge virale était plus élevée lors des premiers jours de symptômes et qu'elle diminuait jusqu'au 11^{ème} jour. La durée de positivité de la RT-PCR pouvait s'étendre jusqu'à 25 jours après l'apparition des premiers symptômes et dépassait 20 jours chez 7/21 patients rapportés dans une étude chinoise. Ces études suggèrent que la contagiosité est probablement plus importante lors des premiers jours de symptômes et qu'elle pourrait persister plus de trois semaines.

Cependant, ces résultats doivent être pondérés, un résultat positif de RT-PCR ne signifiant pas nécessairement que le virus est vivant et qu'il est infectieux. Des cultures virales sont pour cela indispensables.

3.3.11. Taux de létalité

Le taux de létalité dépend de la stratégie diagnostique. Il sera plus faible dans le cadre d'un dépistage de masse qui identifie les personnes symptomatiques et asymptomatiques, alors qu'il sera plus élevé en cas de diagnostic ciblé chez les patients symptomatiques qui présentent des facteurs de risques de maladie sévère ou des critères d'hospitalisation [27].

Une modélisation effectuée au 30 mars 2020, à partir de 44 672 cas confirmés à travers le monde dont 1023 décès, estimait un taux de létalité ajusté de 1,4 %, atteignant 6,4 % dans la population âgée de plus de soixante ans [28].

Dans l'étude italienne de Grasselli et al, le taux de létalité chez les patients admis en réanimation était de 26 % [27].

Au Mali, le taux de létalité est estimé à 2.36% à la date du 5 juin 2022, l'un des taux de létalité le plus faible au monde.

3.3.12. La prévention

3.3.12.1. Les moyens de prévention dans la population générale [25,29]

a. Distanciation sociale ou physique

Complémentaire du confinement ou déconfinement: celle-ci doit permettre à tout individu d'être à une distance d'au moins d'un mètre de tout autre individu, sauf situation particulière où cette distance peut être supérieure (pratique du sport, etc.).

b. Gestes barrières

Il s'agit d'un ensemble de gestes et d'attitudes individuelles permettant de réduire le risque de transmission d'un virus à tropisme respiratoire entre deux personnes dans la population (ne pas se serrer la main, ne pas s'embrasser, tousser dans son coude ou dans un mouchoir jetable, etc.).

c. Hygiène des mains (HDM)

Elle doit être scrupuleusement respectée soit par un lavage des mains à l'eau et au savon (dont l'accès doit être facilité accompagné par la mise à disposition de serviettes à usage unique), soit par une friction hydro-alcoolique (FHA). L'HDM fait référence au lavage fréquent des mains à l'eau et au savon ou à une FHA avec un produit contenant au moins 60% d'alcool selon la norme.

d. Port de masque grand public

Un masque grand public est un masque ayant démontré une efficacité de filtration d'au moins 70% pour des particules de 3 microns émises par la personne portant le masque. Ces masques sont réutilisables et à usage multiple. Ils doivent répondre à des critères de performance de filtration, de «réspirabilité» (pendant une durée maximale de 4h) et de forme. Ces masques devraient être largement distribués dans la population en quantité suffisante sur la durée.

3.3.12.2. Moyens de prévention chez les personnes à risque de formes graves

a. Mesures de distanciation physique

Les personnes à risque de formes graves doivent éviter au maximum le contact avec des personnes susceptibles de les contaminer. A ce titre, les déplacements dans des zones de forte densité de population doivent être limités ou organisés pour respecter les mesures de distance physique.

b. Port de masque

Les personnes à risque de forme grave de Covid-19 doivent également porter un masque grand public à domicile en présence de visiteurs et lorsqu'ils sont amenés à sortir de chez eux pour des raisons personnelles ou professionnelles.

Lors de consultations médicales en cabinet libéral ou en milieu hospitalier, les personnes à risque de forme grave doivent porter un masque chirurgical.

c. Visite à domicile

Pour les personnes présentant un risque de forme grave de COVID-19, il est nécessaire d'appliquer les mesures suivantes:

- Limiter les visites à celles strictement essentielles;
- N'autoriser qu'un seul visiteur par visite;
- Eviter les visites de personnes symptomatiques ou d'enfants; appliquer scrupuleusement les gestes barrières et la distanciation physique : Respecter la distance d'au moins un mètre;
- Ne pas toucher d'objet ou surfaces; la personne à risque portera un masque chirurgical ou grand public;
- Le visiteur doit réaliser une hygiène des mains en arrivant au domicile et porter un masque grand public (double barrière); la pièce dans laquelle la personne reçoit un visiteur comportera une fenêtre et sera ventilée par ouverture de la fenêtre pendant 10 à 15 minutes après la visite en s'assurant de fermer la porte.

d. En milieu de soins

Les mesures barrières et de distanciation physique doivent scrupuleusement respectées. Le patient doit réaliser une hygiène des mains et porter un masque chirurgical dès le début de sa prise en charge quel que soit le lieu de soin.

3.3.12.3. Moyens de prévention pour les professionnels de santé

Il convient de toujours appliquer les précautions standards de manière systématique dans tous les services des établissements de santé. Les précautions standard sont les suivantes : l'hygiène des mains, l'utilisation des équipements de protection individuelle (EPI) pour éviter le contact direct avec le sang, les liquides biologiques, les sécrétions (y compris les sécrétions respiratoires) et la peau lésée des patients. Les précautions standard comprennent également la prévention des piqûres d'aiguille accidentelles ou les blessures par objets tranchants, la gestion des déchets, le nettoyage et la désinfection du matériel et la détergence/désinfection de l'environnement.

3.3.12.4. Mesures complémentaires

Les risques de contracter la COVID-19 sont plus élevés dans les espaces très fréquentés et insuffisamment ventilés où des personnes infectées passent de longs moments ensemble dans une étroite promiscuité, d'où l'importance d'éviter ces espaces clos, très fréquentés.

La ventilation et la climatisation ont une efficacité relative mais elles peuvent apporter une protection complémentaire.

3.4. Physiopathologie [14,20,30]

Les principaux mécanismes qui peuvent jouer un rôle dans la physiopathologie des lésions multi-organes secondaires à l'infection par le SRAS-CoV-2 comprennent la toxicité virale directe, les lésions des cellules endothéliales et la thrombo-inflammation, la dérégulation de la réponse immunitaire et la dysrégulation du Système rénine angiotensine aldostérone (RAAS). L'importance relative de ces mécanismes dans la physiopathologie du COVID-19 n'est actuellement pas entièrement comprise. Alors que certains de ces mécanismes, y compris l'entrée virale médiée par l'ACE2 et les lésions tissulaires, et la dérégulation du SRAA, peuvent être uniques au COVID-19, la pathogénèse immunitaire causée par la libération systémique de cytokines et les dysfonctionnements de la microcirculation peuvent également survenir à la suite d'une septicémie.

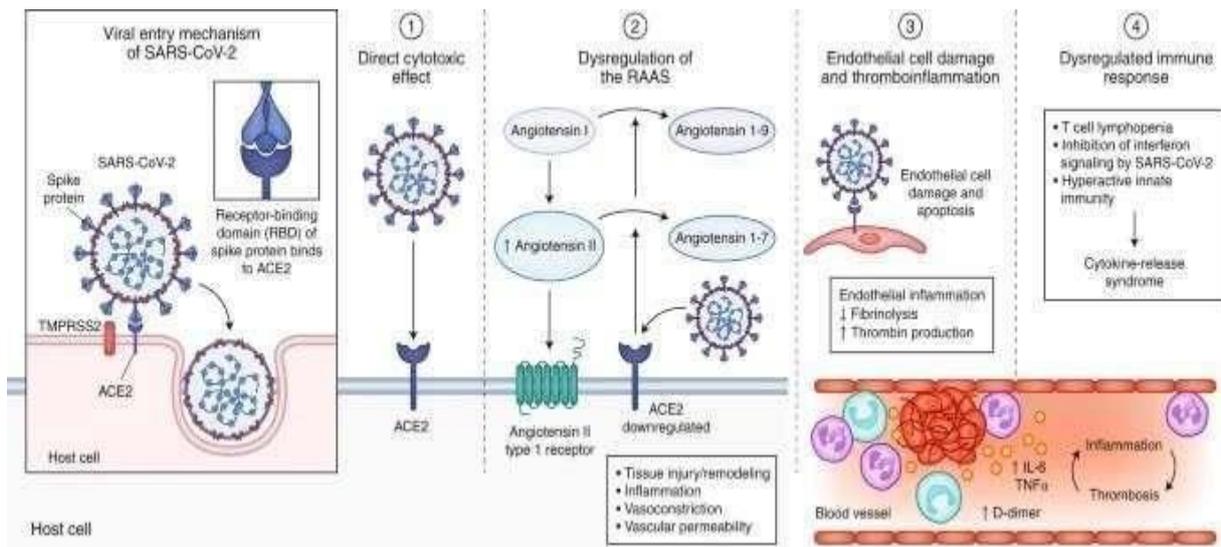


Figure 5: Mécanismes physiopathologiques du SARS-COV-2[30].

3.4.1. Toxicité virale directe

Le SRAS-CoV-2 se transmet principalement par exposition directe ou indirecte des voies respiratoires. Le virus SRAS-CoV-2 et l'ARNm sous-génomique isolés des voies aériennes supérieures peuvent être détectés avec succès par RT-PCR. Plus tard dans l'évolution de la maladie, une réplication virale peut se produire dans les voies respiratoires inférieures, qui se manifeste dans les cas graves comme la pneumonie et le SDRA.

3.4.2. Dommages aux cellules endothéliales et thrombo-inflammation

Les dommages aux cellules endothéliales en vertu de l'entrée médiée par l'ACE2 du SARS-CoV-2 et l'inflammation subséquente et la génération d'un état d'hyper-coagulopathie sont d'autres mécanismes physiopathologiques proposés du COVID-19. L'hypercoagulabilité et le syndrome inflammatoire associés au SARS-CoV-2 semblent fréquemment aboutir à une coagulopathie de consommation, CIVD aggravant le pronostic des Patients [31].

L'expression de l'ACE2 a été démontrée dans l'endothélium artériel et veineux de plusieurs organes, et des études histopathologiques ont trouvé des preuves microscopiques de particules virales du SRAS-CoV-2 dans les cellules endothéliales des reins et poumons.

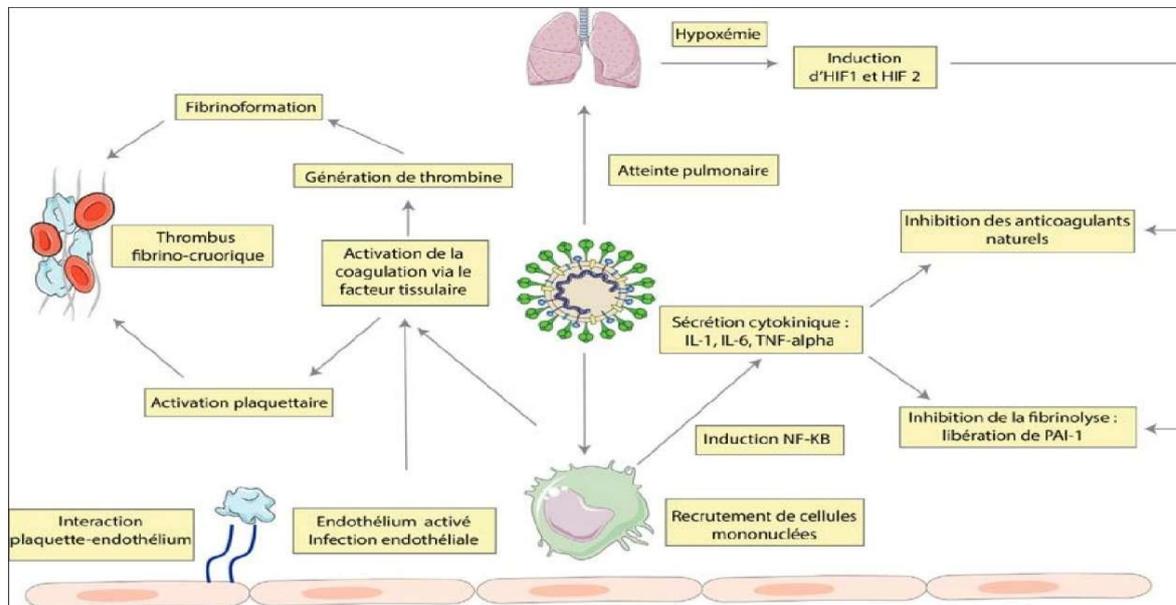


Figure 6: Mécanismes proposés de la coagulopathie de la COVID-19[13].

3.4.3. La réponse immunitaire à SARS-CoV-2

3.4.3.1. Mécanisme de la réponse immunitaire

La réponse physiologique à une infection virale est générée initialement au niveau cellulaire, le virus lui-même capable de déclencher plusieurs signaux via l'activation des PRR cellulaires (Pattern Recognition Receptor). La présence d'ARN viral au sein de la cellule représente notamment un signal fort de danger qui va déclencher les voies interférons et ses molécules cibles (IRF Interferon Regulator factors) ainsi que la voie NFkB. Ainsi les premières lignes de défense sont l'induction des interférons (IFN) de type I et III (IFN alpha, bêta et gamma) la production de facteurs chimiotactiques à l'origine du recrutement localement de cellules inflammatoires, conduisant ensuite à la production de cytokines pro-inflammatoires [25].

La réponse innée à l'infection par le SARS-CoV-2 présente des caractéristiques particulières. En effet des données récentes semblent indiquer que la réponse IFN est déficiente après infection par le SARS-CoV-2 alors même que la production de chimiokines (CCL2, CCL8) et de cytokines pro-inflammatoires (IL6, IL1RA) reste normale voire exagérée(42). De manière intéressante il a également été montré que le récepteur cellulaire du SARS-CoV2, l'ACE2, étant lui-même une protéine de la famille des ISG (interferon-stimulated genes) et donc inducible par l'IFN, permettant au virus de détourner la réponse cellulaire et favoriser sa propre réplication [32].

Suite à une exposition contaminante, le SARS-CoV-2 infecte les cellules épithéliales et immunitaires résidentes alvéolaires. La liaison de la protéine Spike virale avec l'ACE2 entraîne une activation de la TNF α -converting enzyme (TACE) par la portion intracellulaire de l'ACE2, responsable d'une sécrétion de TNF α (mécanisme prouvé pour le SARS-CoV-1). La reconnaissance de la protéine Spike par les TLR des monocytes entraîne l'expression de NF- κ B via MyD88. La signalisation NF- κ B entraîne la sécrétion d'IL-6 et de TNF α , responsables d'une inflammation locale. Après entrée du virus dans la cellule, l'ARN viral est également reconnu par les PRR cytoplasmiques, entraînant l'expression d'IRF3/IRF7 via TRIF, entraînant la production d'interférons de type 1 (IFN-1). Cette production d'IFN-1 sera chez certains patients insuffisants pour contrôler l'infection, favorisant ainsi la réplication virale. Chez d'autres patients, la sécrétion d'IFN-1 sera trop importante, entraînant une hypersécrétion cytokinique et une augmentation de l'expression d'ACE2 sur les cellules épithéliales. La reconnaissance des antigènes viraux par les cellules présentatrices d'antigène entraîne une activation lymphocytaire T, NK et B, déclenchant une réponse T et NK antivirale avec expression de marqueurs d'exhaustion, ainsi qu'une apoptose lymphocytaire (mécanisme non précisé), ainsi qu'une réponse B mémoire et une production d'anticorps spécifiques et neutralisants [13].

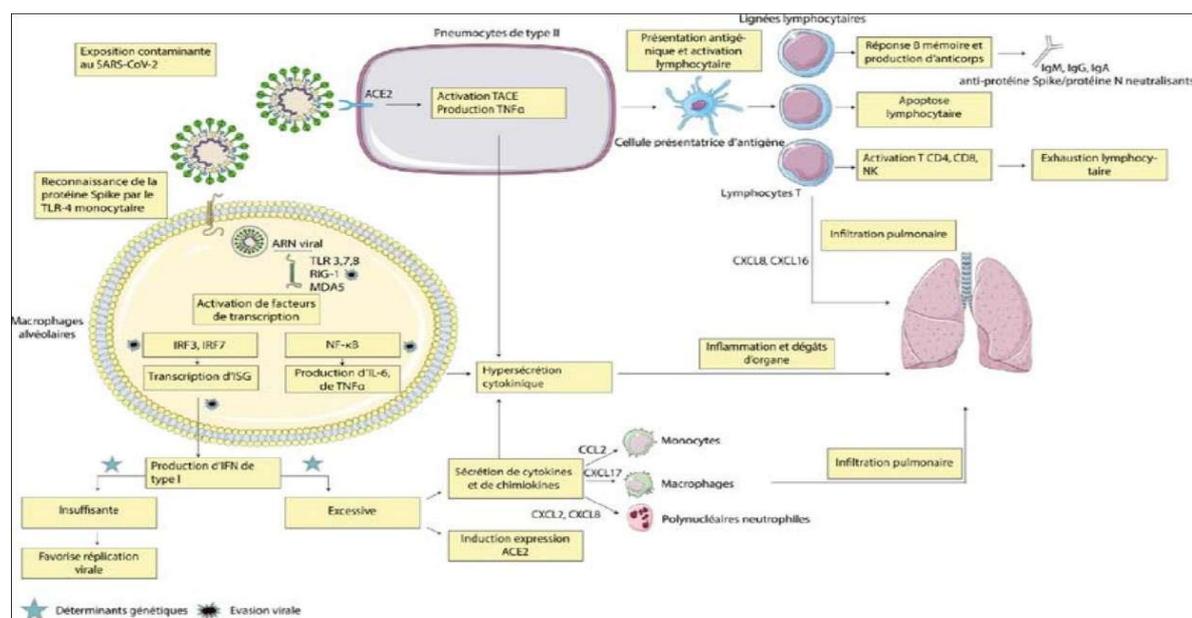


Figure 7 : Mécanismes suspectés de la réaction immunitaire dans l'infection par le SARS-CoV-2[13].

3.4.3.2. Réponse humorale

Les lymphocytes B vont se différencier soit en plasmocytes et produire les anticorps IgG et IgA dans 5 à 7 jours et les IgG dans 7 à 10 jours après l'apparition des symptômes soit en

lymphocytes B mémoires. Selon l'article de Stephens et McElrath publié dans la revue de JAMA [33], la réponse cellulaire est quasi immédiate avec l'activation des lymphocytes T CD4+, renforcée par les lymphocytes T CD8+ et atteindraient un pic dans les 2 semaines mais resteraient détectables à des niveaux inférieurs pendant 100 jours ou plus d'observation. Ainsi le pic d'IgM et IgA est atteint au 28^{ème} jour. Le pic d'IgG est atteint à la septième semaine. A partir du quatrième mois, la concentration d'IgG devient faible.

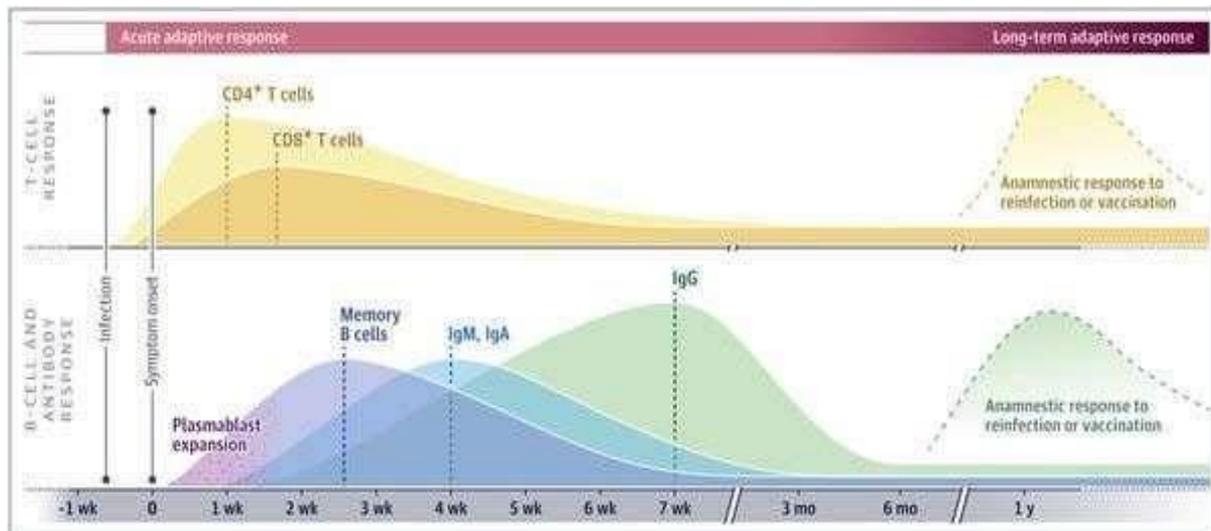


Figure 8 : Réponse immunitaire du SARS-CoV-2[33]

Une réponse immunitaire dérégulée et syndrome de libération de cytokines, en raison d'une sur-activation de l'immunité innée dans le cadre de la lymphodéplétion des cellules T, caractérisent les présentations de COVID-19 sévère. Des études précliniques et humaines antérieures avec des coronavirus humains pathogènes ont proposé une réplication virale rapide, un antagonisme de la signalisation de l'interféron et une activation des neutrophiles et des monocytes-macrophages comme médiateurs de l'hyper inflammation. L'élévation des marqueurs inflammatoires sériques tels que la protéine C-réactive, la Ferritine, le taux de sédimentation érythrocytaire, le D-dimère, le fibrinogène et le lactate déshydrogénase est prédictive d'une maladie critique ultérieure et de la mortalité chez les patients atteints de COVID-19.

3.5. Diagnostic du COVID-19

3.5.1. Diagnostic clinique

La Covid-19 peut être asymptomatique ou symptomatique. Dans le cadre du COVID asymptomatique, il s'agit de la présence de l'ARN viral dans le prélèvement nasopharyngé avec absence de signes cliniques. Dans le cas du COVID symptomatique, la gravité et l'évolution du COVID dépend de l'âge du patient, son état d'immunité et de nutrition ainsi que son état général.

3.5.1.1. Présentation clinique

L'infection par le SARS-CoV-2 semble évoluer en trois phases (figure 9). La phase d'incubation est suivie d'une phase symptomatique qui apparaît dans un délai médian de 5 jours après le contage et qui concernerait 70% des patients infectés. Une phase d'aggravation des symptômes respiratoires est possible et environ 3,4% des patients développaient un SDRA dans un délai médian de 8 jours après le premier symptôme [27].

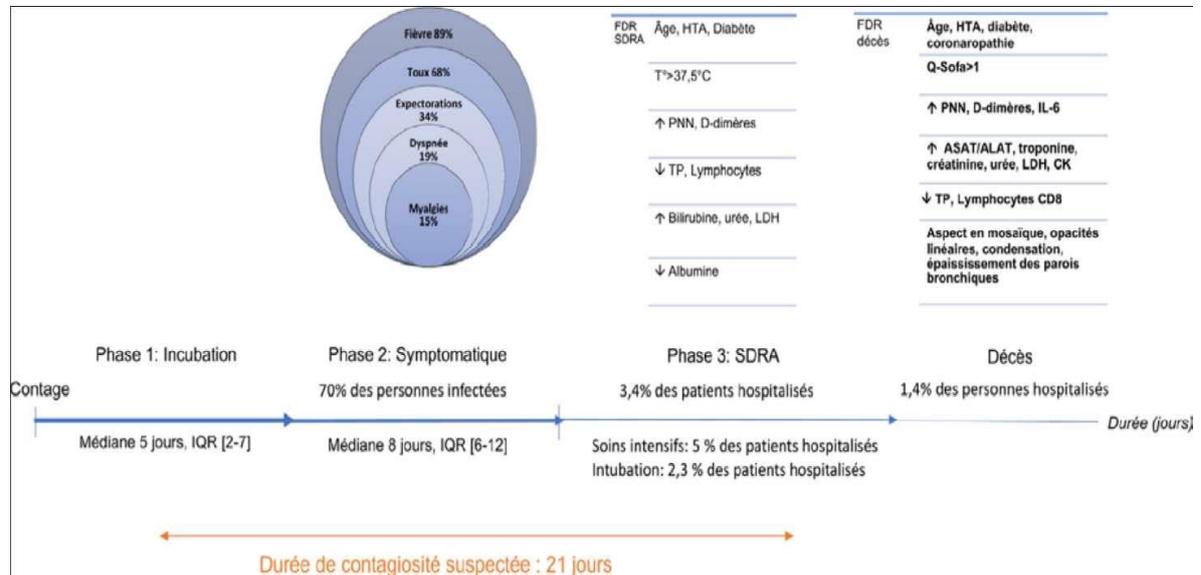


Figure 9 : Phase d'évolution de l'infection à SARS-CoV-2 [27].

3.5.1.2. Formes symptomatiques

Aucune caractéristique clinique spécifique ne permet encore de distinguer de manière fiable le COVID-19 des autres infections respiratoires virales.

Cependant, différentes manifestations cliniques ont été remarquées, allant de formes pauci symptomatiques ou évoquant une pneumonie, sans ou avec signes de gravité (SDRA, voire défaillance multiviscérale). Toutefois des formes avec symptomatologie digestive, état confusionnel, initialement non fébriles sont souvent au premier plan chez les personnes âgées.

3.5.1.3 Formes cliniques du COVID-19

a. Forme bénigne de la maladie

La forme bénigne représente 40%, qui se traduit par:

- Des signes généraux : fièvre, asthénie, myalgie.
- Des symptômes d'infection des voies respiratoires supérieures à type de toux, maux de gorge, éternuement ou écoulement nasal.
- Des symptômes digestifs : représenté par douleurs abdominales, nausées, vomissement ou diarrhées.

b. Forme modérée de la maladie

Selon l’OMS, 40% des patients présente une forme modérée de la maladie, défini par la présence de signes cliniques de pneumonie à savoir fièvre, toux, une polypnée, mais aucun signe de pneumonie sévère, y compris $SpO_2 \geq 90\%$ en air ambiant.

c. Forme sévère de la maladie

L’OMS rapporte que l’aggravation de l’état clinique des patients est présente chez 15% des personnes atteintes de COVID-19, et se définit par la présence de signes cliniques de pneumonie plus l’un des signes ou symptômes suivants : fréquence respiratoire > 30 respirations/min ; détresse respiratoire sévère ; ou $SpO_2 < 90\%$ en air ambiant.

d. Forme critique de la maladie :

La COVID-19 peut être responsable chez 5% des patients d’un état critique associé à des complications, telles qu’une insuffisance respiratoire, un syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA), un état septique et un choc septique, une thromboembolie et/ou une défaillance multiviscérale, notamment une insuffisance rénale et cardiaque aiguë.

3.5.2. Facteurs de risques de forme grave [25,34,35]

Dans la revue de la littérature, les facteurs épidémiologiques, cliniques associés à la survenue de forme grave de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) sont définis comme suit.

- Age avancé : un âge supérieur à 56 ans.
- Sexe masculin.
- Pathologie cardio-vasculaires : hypertension artérielle (HTA) compliquée, antécédent d’accident vasculaire cérébral, antécédent de coronaropathie, antécédent de chirurgie cardiaque...
- obésité avec indice de masse corporelle (IMC) ≥ 30 ;
- cancer évolutif sous traitement hors l’hormonothérapie ;
- patients atteints de cirrhose au stade B du score de Child Pugh au moins;
- Diabète non équilibré ou compliqué ;
- pathologies respiratoires chroniques susceptibles de décompenser lors d’une infection virale : broncho pneumopathie obstructive, asthme sévère, fibrose pulmonaire...ect ;
- insuffisance rénale chronique dialysée ;
- Personnes avec une immunodépression congénitale ou acquise.
- Personnes présentant un syndrome drépanocytaire majeur.

3.5.3. Diagnostic biologique

Poser rapidement le diagnostic de COVID-19, avec le plus d’exactitude possible est la pierre angulaire du contrôle de la pandémie.

3.5.3.1. Eléments d'orientation

A cause de la diversité des tableaux cliniques, devant toute suspicion clinique du COVID doit faire pratiquer immédiatement une recherche de SARS-CoV-2.

Les examens paracliniques dans le cadre de la COVID-19 sont variés et multiples. Certains ont une valeur d'orientation diagnostique, d'autres sont plus spécifiques de la COVID-19.

- **Perturbation biologique**

Certaines modifications de l'hémogramme sont très évocatrices du COVID

- Hyperleucocytose à polynucléaire neutrophile.
- Lymphopénie.
- Anémie et la thrombopénie semblent des anomalies rares.
Anomalies du bilan d'hémostase
- Diminution du TP
- Augmentation des D-Dimères.

Autres paramètres peuvent être indicateurs d'une infection à SARS-CoV-2

- Une augmentation de la CRP.
- Une hyperferritinémie, une augmentation de LDH.
- Elévation des ASAT/ALAT, une hyperbilirubinémie.
- Une hyponatrémie qui peut être secondaire soit à une libération de l'ADH par perte digestives ou faible apport hydrique ou à une sécrétion inappropriée de l'ADH induite par une pneumonie, insuffisance respiratoire ou autres comorbidités [36].

3.5.4. Diagnostic virologique de confirmation

Un cas suspect cliniquement du COVID doit faire l'objet obligatoirement d'une confirmation virologique.

Le diagnostic virologique permet :

- a. De confirmer le diagnostic afin d'arrêter la propagation du virus.
- b. Une meilleure et adéquate prise en charge selon la forme clinique.
- c. Une surveillance médicale.
- d. L'éviction de prise médicamenteuse inutile.

Parmi les tests diagnostiques qui nous permettent de confirmer la COVID, la réaction de transcription inverse suivie d'une réaction de polymérisation en chaîne quantitative en temps réel (RT-qPCR), et le test de diagnostic rapide basé sur la détection de l'antigène spécifique du SARS-CoV-2 sont deux méthodes utilisées dans la phase précoce des manifestations infectieuses.

Les tests de détection des anticorps sériques (ELISA et test de flux latéral) sont utilisés dans la phase ultérieure et après la guérison.

3.5.4.1. RT-PCR

C'est la technique de référence pour le diagnostic du COVID-19.

Les techniques de détection, parfois abrégées NAAT (de l'anglais nucleic acid amplification tests), reposent sur l'amplification de l'ARN du virus SARS-CoV-2. Il existe schématiquement deux types de technologies qui sont fondées, pour la première, sur l'amplification par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) et, pour la seconde, sur l'amplification isotherme des acides nucléiques. Des techniques de séquençage à haut débit commencent à trouver leur place dans le diagnostic de l'infection par le virus SARS-CoV-2. Ces techniques sont essentiellement établies sur le principe de la RT-PCR en temps réel qui comporte 3 étapes : a) l'extraction des acides nucléiques de l'échantillon, b) la transcription inverse des ARN présents en ADN complémentaire grâce à l'utilisation d'une reverse transcriptase (RT) et c) l'amplification du génome viral grâce à des amorces spécifiques de certains gènes. L'amplification « en temps réel », abrégée RT-PCR ou qPCR (pour real-time PCR ou quantitative PCR), permet d'estimer la charge virale de l'échantillon, qui est exprimée en valeur de Ct, le terme Ct ou cycle threshold étant le nombre de cycles de PCR à partir duquel un signal fluorescent est détecté durant la réaction [37].

3.5.4.1.1. Etape pré analytique

Selon les recommandations de l'OMS, la manipulation des prélèvements microbiologiques d'un patient suspect de COVID-19 peut se réaliser dans un laboratoire de sécurité biologique de niveau 2 en respectant les bonnes pratiques de travail, surtout lors des manipulations pouvant entraîner accidentellement des aérosols, en mettant à disposition une conduite à tenir en cas d'incident. La culture du virus doit se faire dans un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 [16].

○ Prélèvement

Actuellement, le diagnostic spécifique de COVID-19 est réalisé par une RT-PCR spécifique sur un écouvillonnage naso ou bucco-pharyngée.

Tout d'abord, il faut suivre les mesures de prévention de contamination lorsque des échantillons sont prélevés sur un cas suspect. L'examineur doit porter des gants, un masque respiratoire FFP2/N95, une blouse et des lunettes de protection ou une visière protectrice. Le patient doit être coopératif, il doit être assis dans une position détendue et confortable pendant le prélèvement de l'échantillon; demandez au patient de se moucher d'abord, et de placer la tête légèrement en arrière (Figure 10): soutenez-la avec la main non dominante, ou appuyez-la

contre le mur afin minimiser les mouvements subis incontrôlés pendant la prise d'échantillon, et tenez-vous debout légèrement en décalé par rapport au patient pour éviter le risque de contamination en cas de toux ou d'éternuement soudain. Informez le patient de la gêne potentielle pendant le prélèvement de l'échantillon.

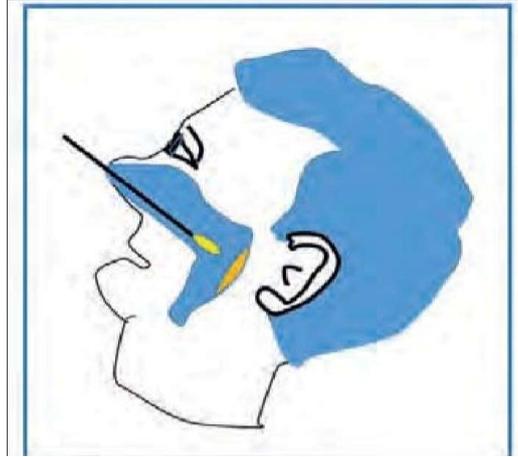


Figure 10 : Position correcte de la tête du patient lors de la réalisation d'un prélèvement nasopharyngé [38].

○ Acheminement :

Le clinicien doit informer le laboratoire de la suspicion d'infection COVID-19. Les échantillons respiratoires sont adressés au laboratoire par un transporteur en utilisant un conditionnement de catégorie B (norme UN 3373)/triple emballage (tube – contenant rigide à visser – Biotainer rigide UN 3373).

Ne pas utiliser de pneumatique.

3.5.4.1.2. Etude analytique

Elle se fait concrètement en analysant la présence du virus au sein d'un écouvillon nasopharyngé prélevé chez un patient suspect. La détection du génome viral (ARN) dans les voies aériennes supérieures (le nasopharynx ou l'oropharynx) est l'un des piliers du diagnostic de l'infection provoquée par SARS-CoV-2.

La première étape de la RT-PCR consiste à rétrotranscrire l'ARN du SARS-CoV-2 en ADN complémentaire ou ADNc qui sera la suite amplifié. Cette étape est assurée par une ADN polymérase-ARN-dépendante qui synthétise le brin d'ADNc simple brin à partir de la matrice ARN. Le second brin est synthétisé grâce à une amorce et une ADN polymérase. Cette étape est suivie par la dénaturation qui consiste à chauffer l'échantillon pendant 10 à 15 minutes à une température de 95°C, ce qui permet une séparation des deux brins de l'ADNc. L'hybridation consiste la troisième étape de ce processus qui se déroule à une température comprise entre 50 et 60°C, les amorces sont de courtes séquence ADN qui se fixent

spécifiquement à l'ADN à amplifier. Les amorces fonctionnent par paires (un sens 5'-3' servira de base pour l'élongation du brin anti-sens et un anti-sens 3'-5' servira de base pour l'élongation du brin sens 5'-3'). La dernière étape consiste en élongation réalisée par la Taq polymérase active à une température de 72°C, qui permet en se fixant à l'amorce de synthétiser un brin d'ADN complémentaire à la matrice grâce aux désoxyribonucléotides disponibles dans le milieu. Après cette étape, le cycle reprend du début. Les cycles se succèdent jusqu'à que la quantité d'amplicon est suffisamment importante pour être détecté (figure 11).

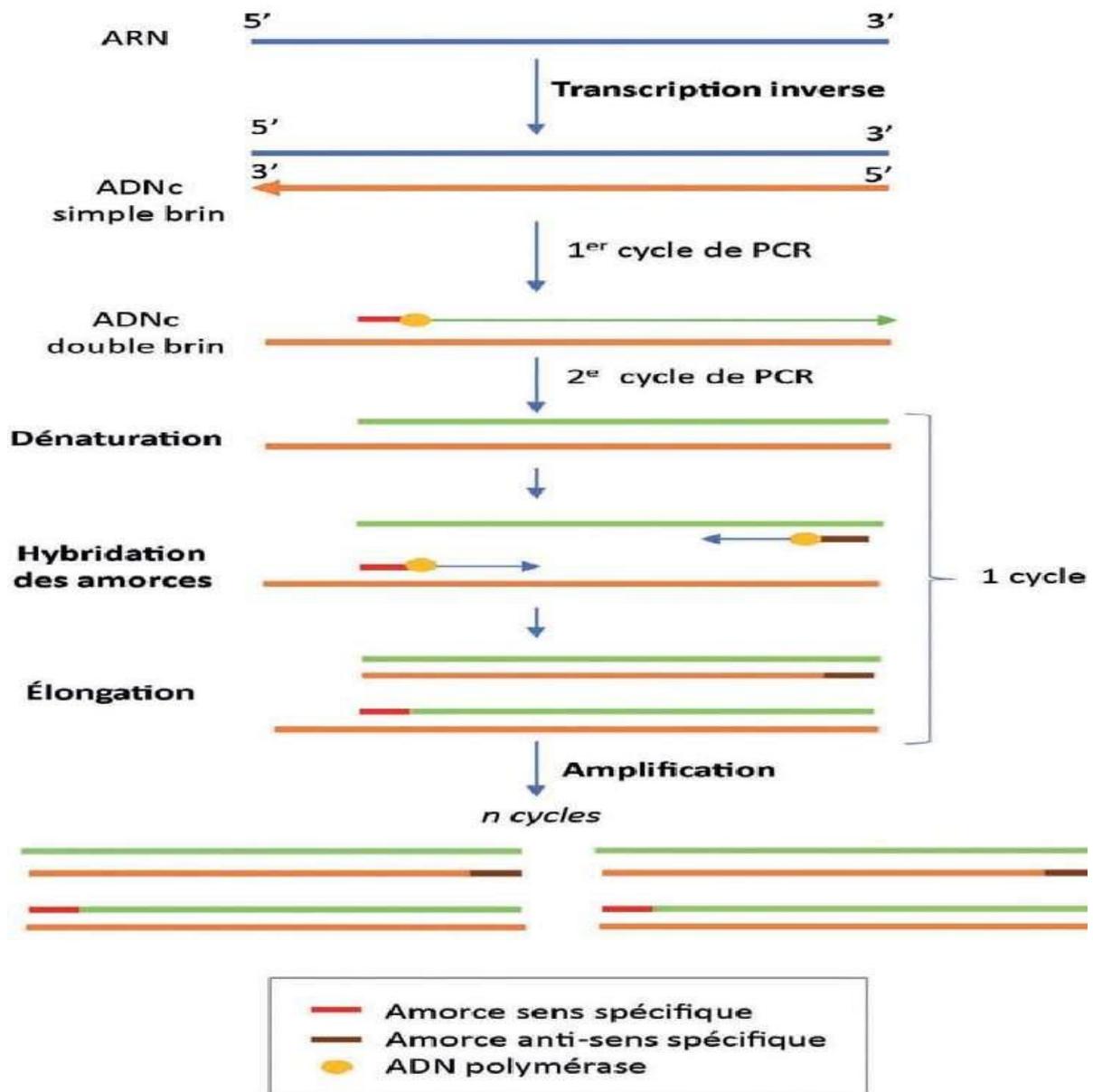


Figure 11: Les étapes de la RT-PCR[39].

Le Ct est le nombre de cycles de réplication nécessaires pour produire un signal fluorescent, avec des valeurs de Ct plus faibles représentant des charges d'ARN viral plus élevées. Une valeur Ct inférieure à 40 est cliniquement rapportée comme positive à la PCR. Cette positivité commence à décliner à la semaine 3 et devient par la suite indétectable. Cependant, les valeurs Ct obtenues chez les patients gravement malades hospitalisés sont inférieures aux valeurs Ct des cas bénins, et la positivité de la RT-PCR peut persister au-delà de 3 semaines après le début de la maladie, lorsque la plupart des cas bénins donneront un résultat négatif.

- Exemple de courbe d'amplification d'un échantillon positif (gène OFR1ab(FAM) en bleu, gène N(ROX) en rouge, et contrôle interne(VIC) en vert). (Figure 12-14)[40].

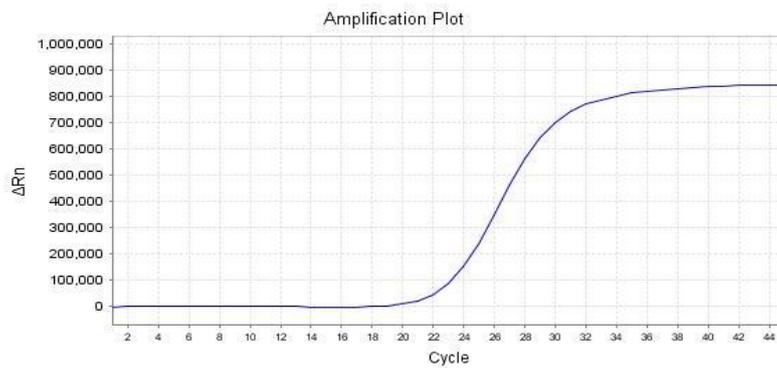


Figure 12 : Exemple de courbe d'amplification d'un échantillon positif

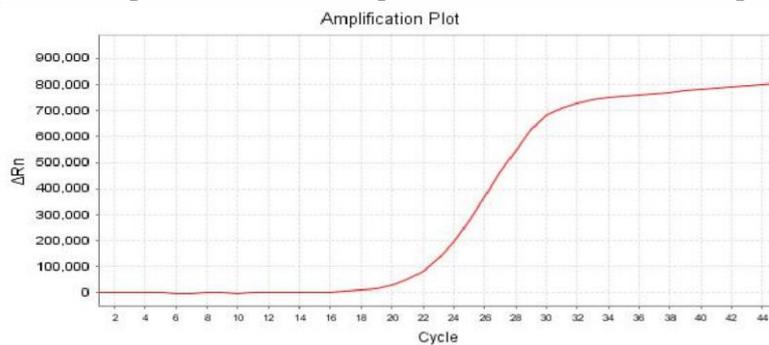


Figure 13 : Exemple de courbe d'amplification d'un échantillon positif

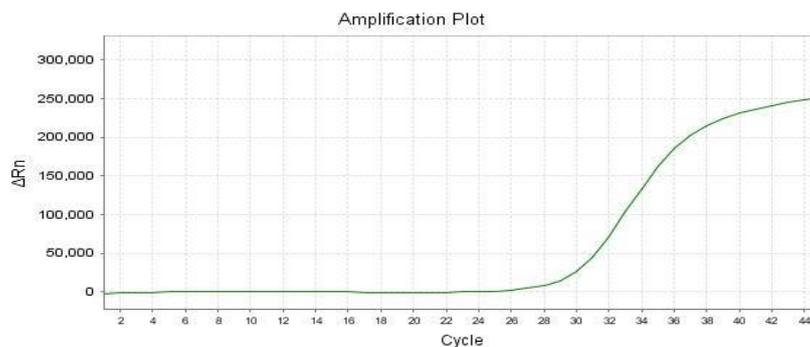


Figure 14 : Exemple de courbe d'amplification d'un échantillon positif

3.5.5. Test Sérologique [38]

Des tests immunologiques permettent de mesurer des anticorps (IgM et IgG circulants) de patients atteints de COVID. On distingue les tests dit tests ELISA et les tests immunochromatographiques. Ces derniers incluent les tests rapides de détection d'anticorps et les tests rapides de détection d'antigène.

a. ELISA

C'est une technique immuno-enzymatique de détection qui se fait en laboratoire et qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps. L'utilisation d'anticorps

monoclonaux rend la détection spécifique et la réalisation d'une gamme en parallèle (droite de référence réalisée en diluant de manière sériée avec un contrôle positif) permet de quantifier les anticorps du patient présents dans le sang.

b. Test rapide de détection d'anticorps

Le test rapide pour le diagnostic du SRAS-CoV-2 permet une détection qualitative des IgG et/ou des IgM dans le sérum, le sang total ou le plasma humains en 10 à 15 minutes environ.

Les tests rapides sont basés sur le principe de l'immunochromatographie à flux latéral et sont disponibles sous forme de cassette. Le test est basé sur la séparation des composants d'un mélange à travers un milieu en utilisant la force capillaire et la liaison spécifique et rapide d'un anticorps à son antigène.

c. Les tests rapides de détection des antigènes du virus SARS-CoV-2

Les tests rapides par immunochromatographie, qui sont réalisés de façon unitaire en moins de 15 minutes et qui, pour certains, détectent séparément les anticorps des classes IgM et IgG et pour d'autres, que les IgG ou des anticorps totaux ; ces tests, de type TROD, peuvent être exécutés en dehors d'un laboratoire de biologie médicale à partir de sérum ou de sang total prélevé par microponction au niveau de la pulpe du doigt [41].



Figure 15 - Illustration d'un test immunochromatographique [41].

Le prélèvement est déposé dans la cupule S située au bas de la figure 15. La ligne C correspond au contrôle de bon fonctionnement du test ; son absence est synonyme d'un test invalide. La ligne T (test) correspond à la détection de la protéine N du virus SARS-CoV-2. Le test présenté à gauche montre une réactivité négative. Le test présenté au centre indique une réactivité faiblement positive. Le test présenté à droite révèle une réactivité positive.

d. L'évolution des Ac :

Les SARS-CoV-2 stimulent une réponse immunitaire. Dans la phase précoce de la maladie, La cinétique de production des Ac anti SARS-CoV-2 a été essentiellement documentée par la détection des IgG et des IgM. Il a été cependant montré dans quelques études que la détection

des IgA est contemporaine à celle des IgM, en moyenne 5 jours après l'apparition des signes cliniques (3 à 6 jours), avec un taux de séroconversion de 90 % à 100% de J 15 à J 21 [25,42]. La détection des IgM et des IgG est observée entre J5 et J14 après le début des signes cliniques avec un délai médian de 5 à 12 jours pour les IgM et 14 jours pour les IgG et les IgA [25,42]. La réponse humorale semble limitée dans le temps avec la baisse du titre des Ac de type IgG et des Ac neutralisants observés 2 à 3 mois après l'infection, ceci est observé plus spécifiquement chez des personnes ayant présenté des formes asymptomatiques ou pauci symptomatiques [25,43,44] (figure 16).

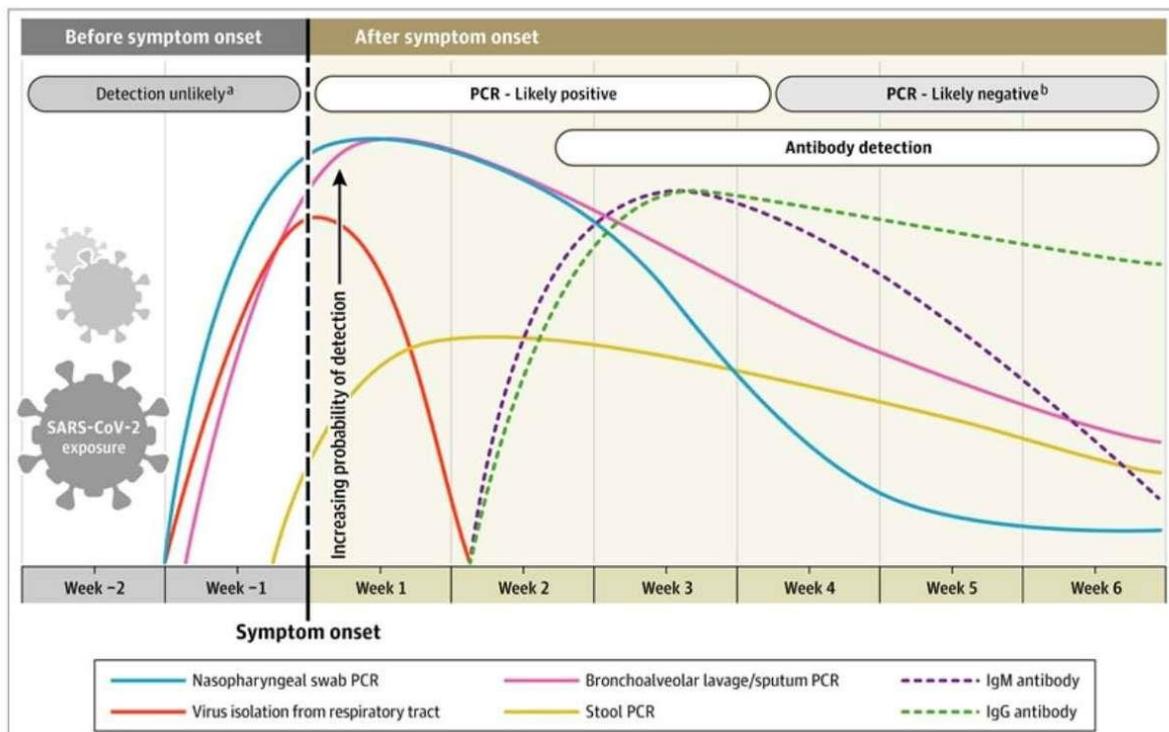


Figure 16 : Cinétique des marqueurs virologiques au cours de l'infection à SARS-CoV-2[43].

3.6. Traitement

En raison de l'arrêt spontané de l'épidémie de SRAS due au SARS-CoV en 2002, sans qu'il n'ait été besoin de traitement particulier, et du faible taux de transmission du MERS, aucun traitement antiviral ou vaccin n'a fait l'objet de développement, faute d'intérêt des institutions de recherche nationales et d'organisations internationales et d'investissement par les compagnies pharmaceutiques des pays développés. Il est donc actuellement difficile de prendre en charge les patients les plus graves atteints du COVID-19.

Plusieurs molécules, dont l'activité anti-coronavirus ou d'autres types de virus avait été démontrée, font aujourd'hui l'objet de nombreux essais cliniques afin de trouver au plus vite une solution thérapeutique contre le COVID-19, afin, en particulier, de désengorger les services

de réanimation et ainsi de sauver un maximum de vies. Il s'agit de molécules HTA (host-targeting antiviral) ciblant indirectement le virus, comme la chloroquine, qui interférerait avec le cycle du virus en altérant possiblement l'étape d'entrée par endocytose du virus, ou de molécules qui affectent directement le virus, les DAA (direct-acting antiviral), en interférant avec son assemblage ou sa réplication.

D'autres molécules ciblent les conséquences, notamment inflammatoires, de l'infection qui sont à l'origine des détresses respiratoire observées. Toutes ces molécules HTA et DAA font l'objet d'essais intégrant des cohortes de patients plus ou moins importantes [45].

4. METHODOLOGIE

4.1. Lieu de l'étude

Notre étude a lieu dans le Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée sis à la Faculté des Sciences Techniques du Mali. C'est un centre international d'excellence pour la formation et la recherche en Santé et en Agriculture. Depuis sa création en 2000, les principaux axes d'intervention du LBMA sont :

- La formation des étudiants de Master, PhD Sciences Biologiques et Agronomiques, Doctorat en Pharmacie et Médecine ;
- La recherche pour la lutte contre les pathologies humaines (Paludisme, VIH, Tuberculose, arboviroses, etc....) ;
- La recherche en biotechnologie pour amélioration de la production végétale et animale ;
- Le renforcement des capacités du pays pour le suivi et l'évaluation des projets de développement international en Santé et en Agriculture.

Les unités

- CLINIQUE-BIOLOGIE-CLINIQUE

Ils s'assurent la coordination des activités cliniques en générant les données sur les Symptômes des maladies comme le paludisme, le VIH, etc. Leur travail s'appuie sur l'unité de Biologie Clinique qui permet d'évaluer les paramètres hématologiques et biochimiques notamment, ceux liés à la fonction du Foie et des reins et l'électrophorèse de l'hémoglobine lors des essais cliniques.

- Biotechnologie :

Les activités de recherche se concentrent principalement sur les interactions entre les plantes notamment le riz et les microorganismes.

- GÉNOMIQUE

Les détections des mutations ponctuelles géniques, pouvant être associées aux résistances, aux médicaments, à la sévérité des maladies.

Le séquençage pour la détection des mutations.

- ZOONOSE

Elle s'occupe du diagnostic des maladies transmises des animaux à l'Homme. Sa mission est d'utiliser sa plate-forme pour fournir en l'espace de trois heures le diagnostic des cas suspects de zoonoses comme le cas de diagnostics du virus de la fièvre jaune et le COVID-19 par la méthode du PCR en temps réel. Sa plate-forme de sécurité niveau II comprend une chaîne ELISA pour les tests sérologiques, des équipements d'amplification de l'ADN par la PCR en temps réel.

○ PARASITOLOGIE

Cette unité travaille sur :

La parasitologie du paludisme et les maladies tropicales négligées comme les schistosomiasés. Les aspects parasitologiques des essais cliniques et l'évaluation de l'efficacité thérapeutique des combinaisons thérapeutiques à base d'artémisinine (CTA).

4.2. Type d'étude

L'étude s'est déroulée au LBMA. Il s'agissait d'une étude transversale entre Décembre 2021 à Juin 2022.

4.3. Population d'étude

Participants: toutes les personnes reçues au laboratoire de biologie moléculaire appliquée qui ont sollicité un test COVID-19 entre décembre 2021 et juin 2022.

4.4. Critères d'inclusion

Toutes les personnes, tout âge confondu, reçues au LBMA pendant la période d'étude et qui ont sollicité un test COVID-19.

4.5. Critères de non inclusion

Les échantillons avant Décembre 2021 et après juin 2022.

4.6. Echantillonnage

L'étude a été faite sur 133 patients venus au laboratoire pour dépistage du COVID-19 et qui respectaient les conditions d'inclusion à notre étude.

4.7. Collecte de données

Les échantillons consistaient en des écouvillons oropharyngés. Un écouvillon pour le test de diagnostic rapide et un échantillon pour la PCR réalisés le même jour. À l'aide des fiches de renseignement, des informations sur les paramètres sociodémographiques (nom, prénom, âge, sexe, adresse, profession), contact, voyageur et statut vaccinal ont été enregistrées.

Chaque échantillon reçu était ainsi analysé par PCR et par TDR-Ag.

4.8. La réception des prélèvements au laboratoire

Dans le cadre de la démarche qualité, et pour une bonne traçabilité, les prélèvements reçus au laboratoire étaient inscrits dans les registres de laboratoire et saisis sur support électronique.

Chaque registre comprend :

Une partie de renseignements sur le patient (nom et prénoms, sexe, âge, résidence, voyageur, statut vaccinal) ;

Les résultats des TDR et de la PCR positives, sont systématiquement portés dans le registre.

4.9. Présentation des méthodes

4.9.1. Le Test de Diagnostic Rapide(TDR)

Les tests de diagnostic rapide utilisés étaient des cassettes de la marque VivaDiag™(Vivachek®). C'est un test immunochromatographique détectant comme antigène la protéine de nucléocapside du SARS-CoV-2, sur un échantillon provenant d'un prélèvement nasopharyngé, oropharyngé ou nasal. La lecture du résultat se fait dans les 15 minutes après de dépôt de goutte.

o Description du test de Diagnostic Rapide :

Chaque boîte contient : 25 cassettes tests, 25 écouvillons stériles, 25 tubes d'extraction et comptes gouttes, 1 présentoir, 25 solutions tampons, 1 notice en Anglais. Dimensions en mm : 255 x 140 x 80, poids : 338g.

Fiabilité :

Selon le fabricant, le test rapide VivaDiag™ SARS-CoV-2 Ag a montré :

100% spécificité clinique

98,79% de fiabilité clinique

90,90% de sensibilité clinique.

Validé par l'HAS, validé CE, validé ISO 13485.

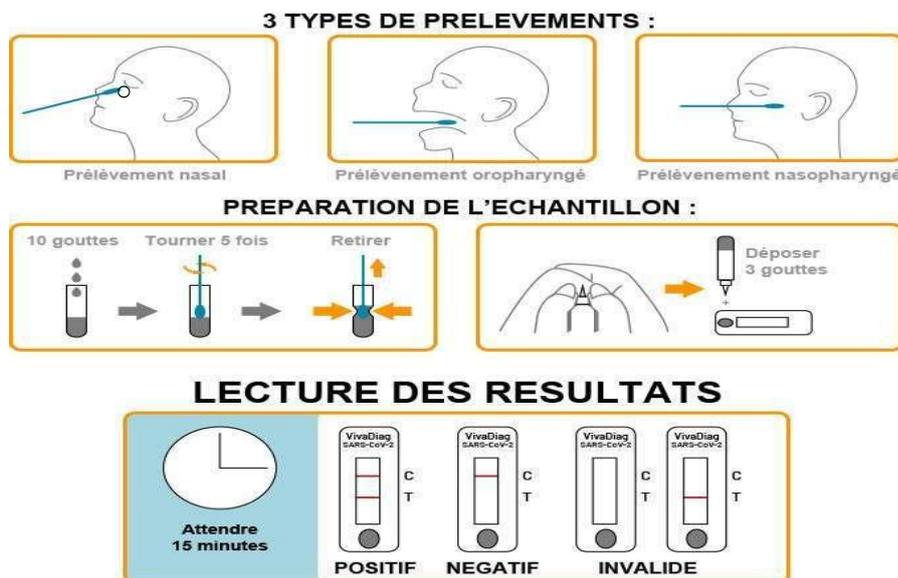


Figure 17 : Étapes de réalisation du TDR

o Prélèvement oropharyngé de l'échantillon

Insérez l'écouvillon stérile dans la gorge qui présente le plus de sécrétion de la zone rouge de la paroi de la gorge et des amygdales maxillaires pour prélever un échantillon d'écouvillon de gorge. Frottez modérément les amygdales bilatérales et la paroi de la gorge pour obtenir l'échantillon. Veuillez ne pas toucher la langue lors du retrait de l'écouvillon.

○ **Traitement des échantillons**

Les échantillons fraîchement prélevés doivent être testé aussitôt que possible. Il est essentiel que les méthodes correctes de prélèvement et de préparation des échantillons soient suivies.

○ **Procédure de test**

Permettra aux dispositifs de test et à la solution d'extraction de s'équilibrer à température entre 15-30°C avant le test.

- Après prélever d'échantillons se référer au prélèvement d'échantillon (figure 17);
- Insérer l'écouvillon stérile avec l'échantillon prélevé dans le tube d'extraction. Faites rouler 5 fois en appuyant la tête contre l'intérieur du tube d'extraction et puis enlevez-le. Essayer de libérer autant de liquide que possible. Éliminez l'écouvillon usagé dans les déchets dangereux de biologie.
- Retirer un dispositif de test de la pochette en aluminium scellée et placez-le sur une surface propre et plane.
- Mettre l'embout du tube.
- Appliquer 3 gouttes de l'échantillon extrait sur la fenêtre de l'échantillon. Éviter les bulles lors de l'opération.
- Lire le résultat après 15 minutes. Ne pas dépasser 20 minutes.

○ **Interprétation des résultats**

• **Résultat positif**

A la fois la ligne de qualité de contrôle C et la ligne de détection T apparaissent.

• **Résultat négatif**

Uniquement la ligne de qualité de contrôle C apparaît, sans autre ligne apparaissant sur la ligne de détection.

• **Résultat invalide**

La ligne de contrôle de qualité C n'apparaît pas cela indiquant que le test est invalide, que la ligne de détection apparaît ou non. Prélever un nouvel échantillon et effectuer un autre test avec un nouveau dispositif de test.



Figure 24 : Image du test TDR-Ag

Le TDR a donné des résultats interprétables de 100% des échantillons.

4.9.2. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Le test PCR permet de savoir si une personne est contaminée par le SARS-CoV-2 au moment où le test est réalisé. Il débute généralement par un prélèvement nasopharyngé, fait avec un écouvillon. Bien qu'il soit possible de l'effectuer grâce à un prélèvement salivaire. Ensuite, le génome du coronavirus est détecté par méthode RT-PCR. Ce qui signifie Reverse Transcriptase–Polymerase Chain Reaction. C'est-à-dire que le génome du coronavirus, détecté sous forme d'ARN, est d'abord rétrotranscrit en ADN - « rétro » car ce processus a normalement lieu de l'ADN vers l'ARN. Avant que cet ADN soit amplifié, grâce à une réaction en chaîne par polymérase. Autrement dit, grâce à des enzymes nommées ADN polymérases, un nombre initialement faible de séquences d'ADN est dupliqué à la chaîne jusqu'à être aisément détectable.

4.10. Analyses moléculaires

4.10.1. Extraction de l'ARN du SARS-Cov-2

L'extraction de l'ARN du SARS-Cov-2 a été faite manuellement avec le kit Qiagen® OneStep selon le protocole du fabricant à partir des prélèvements oropharyngés. Ce kit reconnu pour sa sensibilité et la pureté de l'ADN obtenu, a été utilisé pour l'extraction de nos échantillons. (Cf. ANNEXES)

- **Procédure d'extraction manuelle de l'ARN du SARS-CoV-2:**
 1. Mettre 560µl de AVL+ Carrier (554,4= AVL + 5,6= Carrier ARN) dans un tube 1,5 eppendorf;
 2. Ajouter 140µl de l'échantillon, vortexer pendant 15secondes et laisser incuber sous la hotte à la température ambiante pendant 10min. Centrifuger brièvement;
 3. Ajouter 560µl d'Éthanol absolu vortexer pendant quelques secondes puis centrifuger brièvement;
 4. Transférer 630µl du mélange dans un tube de collection composé d'un filtre et d'une colonne. Centrifuger à 8000rpm pendant 1min;
 5. Mettre le filtre dans une nouvelle colonne et se débarrasser de la colonne contenant le filtrat;
 6. Transférer les 630µl restant du mélange comme décrit dans l'étape 4.
 7. Répéter l'étape 5;
 8. Ajouter 500µl du réactif AW1 et centrifuger à 8000rpm pendant 1min;
 9. Mettre le filtre dans une nouvelle colonne en se débarrassant du filtrat;
 10. Ajouter 500µl du réactif AW2 et centrifuger pendant 3min à 14000rpm;
 11. Mettre le filtre cette fois-ci dans un tube 1.5 eppendorf ajouter 60µl de la solution d'éluion puis centrifuger à 8000rpm pendant 1min.

Tableau III : Composants pour la RT-PCR en une étape

Componnet	Volume/reaction	Final concentration
Master mix		
RNase-free water	Variable	–
5x Q-QIAGEN OneStep RT-PCR Buffer	5.0µ	1x
dNtP Mix	1.0µ	400µM of each dNTP
5xQ-Solution	5.0µ	1x
Primer A	Variable	0.6µM
Primer B	Variable	0.6µ
Enzyme Mix	1.0µ	–
RNase inhibitor	Variable	5-10 unit/reaction
Template RNA		
Template RNA,	Variable	1pg- 2µg/reaction
Total volume	25.0µ	–

Tableau IV : Les conditions d'amplification par la technique de PCR.

Température	Temps	Nombre de fois
1) 95°C	15 minutes	1 X
2) 95°C	20 Secondes	45 X
3) 63°C	40 secondes	
4) 72°C	30 secondes	

4.10.2. StepOne™ et StepOnePlus™

Le système de PCR en temps réel Applied Biosystems StepOne™ (système StepOne™) s'appuie sur le principe de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR). Il utilise des réactifs PCR basés sur le principe de la fluorescence pour assurer :

- La détection quantitative des séquences cibles d'acide nucléique (cibles) par une analyse en temps réel ;
- La détection qualitative des séquences cibles d'acide nucléique (cibles) par une analyse en point final et une analyse de la courbe de fusion.

4.10.2.1. Principe

Il est possible de mettre en œuvre les applications suivantes sur le système StepOne :

- Quantification, notamment :
 - Quantification absolue par la courbe standard
 - Quantification relative par la courbe standard
 - Comparaison des valeurs de C_T
- Génotypage
- Présence/absence

Remarque : Le système StepOne permet également d'effectuer une analyse de la courbe de fusion.

Dans la RT-PCR 1 étape, effectuer la rétro-transcription et la PCR dans un système à tampon unique (Figure 18). La réaction se produit sans ajout de réactifs entre les étapes RT et PCR. La RT-PCR 1 étape permet de ne préparer qu'un seul tube pour la RT et l'amplification par PCR.

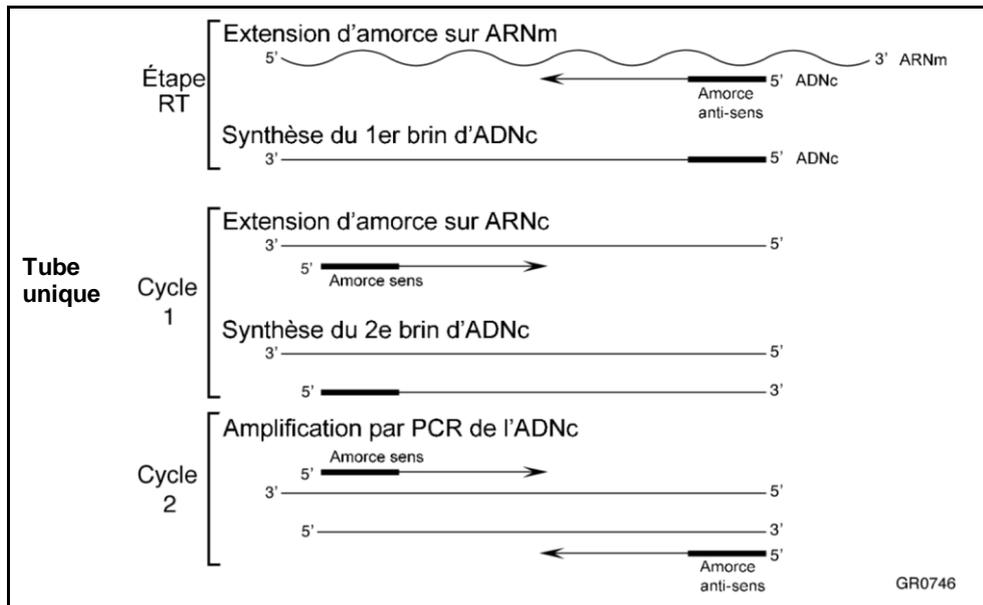


Figure 18: Représentation schématique de la RT-PCR 1 étape

4.10.2.2. Les types de réactif avec le système StepOne

- Les réactifs TaqMan® ;
- Les réactifs SYBR® Green ;
- Les autres réactifs basés sur le principe de la fluorescence.

Dans notre étude, le réactif TaqMan® qui était utilisé [mix prêts à l'emploi contenant les amorces et la/les sonde(s)] et le master mix TaqMan®.

4.10.2.3. Validité expérimentale

Il y a trois contrôles différents dans ce kit, la description des contrôles utilisés dans ce kit est listée ci-dessous :

- Contrôle positif SARS-CoV-2 : Le contrôle positif de modèle est un pseudo virus qui cible le gène N et le gène ORF1ab du SARS-CoV-2. Il est utilisé sur chaque plaque et est nécessaire pour vérifier les fonctions d'amplification et de détection du test, et surveiller les défaillances grossières des réactifs, telles que la dégradation des réactifs ou une mauvaise configuration du test.
- Contrôle négatif du SRAS-CoV-2 : Le contrôle négatif (particules virales ne portant pas de gènes cibles) est nécessaire pour vérifier la contamination.

Un résultat négatif indique que les réactifs n'ont pas été contaminés. Si un résultat est positif, il faut analyser les résultats et vérifier si une courbe d'amplification correcte a été obtenue lorsqu'une courbe d'amplification claire est obtenue, répétez l'essai pour confirmer que l'échantillon n'a pas été contaminé.

Test pour confirmer si l'échantillon a été contaminé ou non. Un contrôle négatif doit être testé avec les échantillons au même moment dans chaque expérience.

- Contrôle interne : Le contrôle interne est constitué du gène humain ACTB (β -actine).

Qui est nécessaire pour contrôler la qualité de l'acide nucléique respiratoire et du système de réaction PCR afin d'éviter les échantillons vierges et les faux résultats.

Un résultat positif indique que le système de réaction PCR a fonctionné correctement, et que la qualité de l'acide nucléique est acceptable. Étant donné que les amorces et les sondes spécifiques du Contrôle interne sont ajoutées au mélange réactionnel SARS-CoV-2, chaque échantillon testé doit avoir un contrôle interne positif.

Le plasmide contenant le gène ACTB (β -actine) a également été ajouté au contrôle négatif SARS-CoV-2 et au contrôle positif SARS-CoV-2.

Remarque : dans ce produit, la fluorescence du gène ORF1ab est FAM, la fluorescence du gène N est ROX et la fluorescence du gène du contrôle interne est VIC.

- Contrôle positif SARS-CoV-2 : Les canaux FAM et ROX présentent une courbe d'amplification typique de type S et une valeur CT < 35 %.
- Contrôle négatif du SARS-CoV-2 : Valeur CT des canaux FAM et ROX > 35 ou aucune valeur CT. La courbe d'amplification est une ligne droite ou une ligne légèrement oblique, pas de Période de croissance exponentielle.
- Échantillon expérimental : le canal VIC du contrôle interne présente une courbe d'amplification typique de type S et une valeur CT < 35 .
- Le résultat de l'expérience n'est qualifié que si les conditions 1, 2 et 3 ci-dessus sont toutes satisfaites en même temps, sinon il est invalide.

4.10.2.4. Description du dispositif

Le logiciel des systèmes StepOne prend en charge une variété de méthodes d'analyse, notamment :

La quantification absolue ; Courbe standard ; Quantification relative ; Courbe standard relative ; Ct comparatif ; Essais en présence/absence (plus/moins) avec un contrôle interne contrôle positif interne ; Analyse de la courbe de fusion ; Génotypage (y compris l'amplification en temps réel) ; Analyse de fusion haute résolution (logiciel supplémentaire requis).

Indépendamment du type d'application, chaque point de collecte de données ou lecture comporte trois phases :

Excitation – L'instrument StepOne™ illumine tous les puits de la plaque, ce qui excite les fluorophores dans chaque réaction.

Émission – L’optique de l’instrument StepOne collecte la fluorescence résiduelle émise par les puits de la plaque de PCR. L’image résultante, recueillie par le dispositif, est uniquement composée de la lumière correspondant à l’intervalle des longueurs d’ondes d’émission.

Collecte – L’instrument StepOne crée une représentation numérique de la fluorescence résiduelle recueillie sur une période déterminée. Le logiciel StepOne™ conserve l’image fluorescente brute en vue de l’analyse. Après une réaction de PCR, le logiciel StepOne utilise les données de calibration (spatiale, spectrale et du bruit de fond) pour déterminer l’emplacement et l’intensité des signaux fluorescents à chaque lecture, le fluorophore associé à chaque signal fluorescent et l’amplitude du signal.



Figure 19 : Dispositif StepOnePlus™ 96 puits au LBMA.

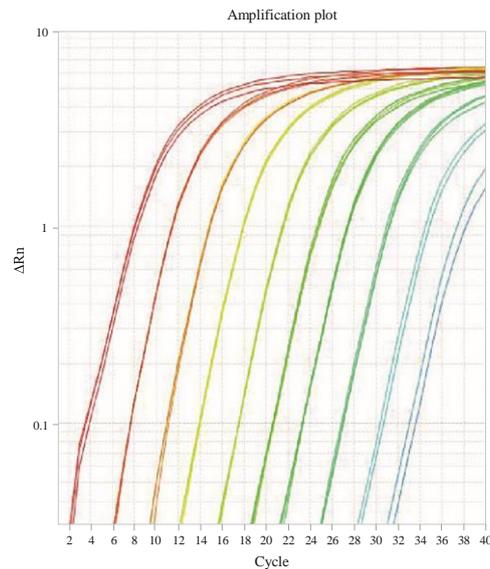


Figure 20 : Large gamme dynamique.

Le graphique d'amplification montre le logarithme de la variation de la fluorescence du rapporteur normalisé en fonction du nombre de cycles de PCR. Ce graphique provenant du système StepOne illustre 9 logs de plage dynamique linéaire pour un test Applied Biosystems™ TaqMan™ de l'ADNc contenant la séquence cible 18S dans des dilutions en série de 10 fois.

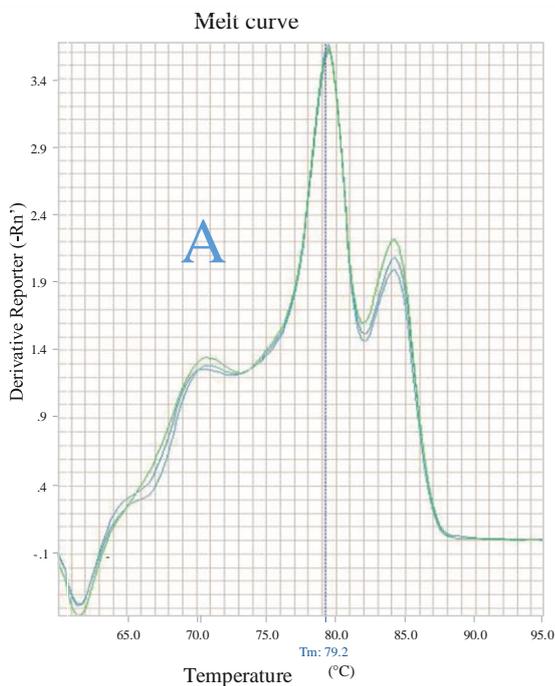


Figure 21-(A) : Analyse de la courbe de fusion. Une PCR standard a été réalisée pour générer amplicons pour 18S, β-actine, et GAPDH. Des aliquotes de chaque amplicon ont été dans un tube de réaction et une analyse de la courbe de fusion a été réalisée.

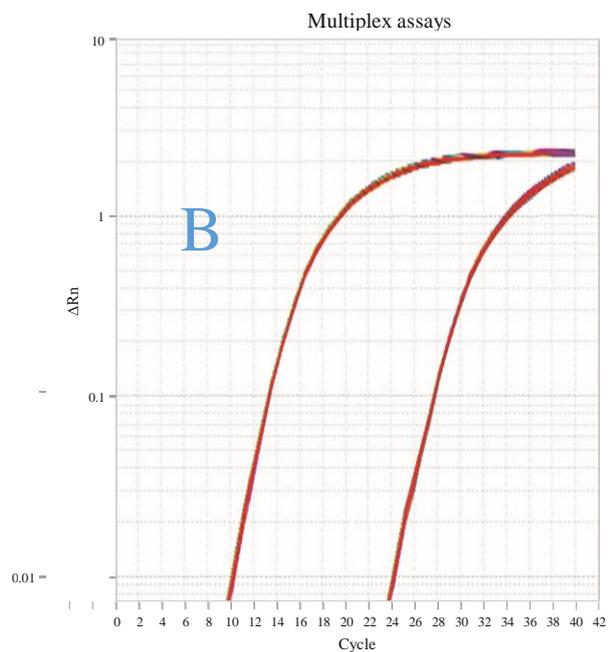


Figure 22(B) : Essai multiplex. Essais TaqMan multiplex sur le système StepOnePlus. Système StepOnePlus montrant l'amplification de l'ADNc (96 échantillons) à l'aide de sondes marquées avec des rapporteurs VIC et FAM pour 18S et TGF-β.

4.11. Analyses statistiques

L'analyse statistique des données a été réalisée à l'aide du logiciel Epi info version 7.2.5.0 et nos tableaux avec Excel 2013. La gestion des références fait avec le logiciel Zotero version 6.0.8 selon le style Vancouver (brackets). Les résultats de notre étude ont été présentés sous forme de tableaux et figures.

4.12. Aspects éthiques

L'anonymat des personnes enquêtées a été préservé et les données sauvegardés. La collecte, les traitements d'échantillons et les tests ont été effectués selon les bonnes pratiques de laboratoire.

4.13. Critères à évaluer

Le test RT-PCR sur prélèvement oropharyngé constitue le test de détection de première intention du SARS-CoV-2 en pratique. Ce test RT-PCR sur prélèvement oropharyngé a par conséquent été pris dans ce rapport comme test de référence et comparateur principal pour estimer la sensibilité (Se) et spécificité (Sp) des tests antigéniques sur prélèvement oropharyngé.

4.13.1. Validités intrinsèques et prédictives des tests

Les validités intrinsèques et prédictives des différents tests conduits sont calculées comme suit :

Tableau V : Modalité de calcul de la Performance du TDR-Ag.

TDR-Ag	PCR		Total
	Positif	Négatif	
Positif	VP (Vrais Positifs)	FP (Faux Positifs)	VP+FP
Négatif	FN (Faux Négatifs)	VN (Vrais Négatifs)	FN+VN
TOTAL	VP+FN	FP+VN	VP+FP+FN+VN

- Sensibilité **Se** (Probabilité que le test soit positif en cas de SARS-CoV-2)

$$Se = \frac{VP}{(VP + FN)}$$

Où VP est le nombre de vrais positifs et FN le nombre de faux négatifs.

- Spécificité **Sp** (Probabilité que le test soit négatif en l'absence de SARS-CoV-2) :

$$Sp = \frac{VN}{(VN + FP)}$$

Où VN est le nombre de vrais négatifs et FP est le nombre de faux positifs.

- Valeur prédictive positive **VPP** (Probabilité que l'échantillon soit issu d'un SARS-CoV-2 en cas de test positif) :

$$VPP = \frac{VP}{(VP+FP)}$$

Où VP est le nombre de vrais positifs et FP est le nombre de faux positifs.

- Valeur prédictive négative **VPN** (Probabilité que l'échantillon ne soit pas issu d'un SARS-CoV-2 en cas de test négatif) :

$$VPN = \frac{VN}{(VN + FN)}$$

Où VN est le nombre de vrais négatifs et FN est le nombre de faux négatifs.

4.13.2. Fiabilité du test

La fiabilité a été déterminée en calculant le coefficient de kappa

DÉFINITION DU COEFFICIENT KAPPA

L'accord observé entre un ou plusieurs jugements qualitatifs, résulte de la somme d'une composante «aléatoire » (hasard) et d'une composante d'accord «véritable» (réel). Afin de contrôler ce hasard, le coefficient Kappa (K) propose de chiffrer l'intensité ou la qualité de l'accord réel.

$$K = \frac{Po - Pe}{1 - Pe}$$

Po : la proportion d'accord observée ou concordance observée

Pe : la proportion d'accord aléatoire ou concordance aléatoire.

L'accord sera d'autant plus élevé que la valeur de Kappa est proche de +1 et l'accord maximal est atteint si $K = 1$.

Tableau XVII : Degré d'accord (concordance) et valeur de Kappa proposé par Landis et Koch [46].

Accord	Kappa
Excellent	1,00 - 0,81
Bon	0,80- 0,61
Modère	0,60 - 0,21
Mauvais	0,20 - 0,0
Très mauvais	< 0,0

5. RESULTATS

L'étude a concerné 133 patients. Les informations recueillies sur les fiches de prélèvement ont permis d'obtenir les tableaux et figures suivants.

5.1. Description sociodémographique des patients

a) Le sexe

Tableau VI : Répartition des patients selon le sexe (N=133)

Sexe	Effectifs(n)	Pourcentage(%)
Féminin	32	24,1
Masculin	101	75,9
TOTAL	133	100,0

Le sexe masculin était le plus représenté avec 75,9% (101/133) avec une sex-ratio (M/F) de 3,17.

b) L'âge

Tableau VII : Répartition des patients en fonction de la tranche d'âge (N=133)

Tranches d'Age	Effectifs(n)	Pourcentage(%)
[10-20[4	3,0
[20-30[28	21,1
[30-40[44	33,1
[40-50[33	24,8
[50-60[10	7,5
[60-70[7	5,3
[70-80[6	4,5
[80-< [1	0,8
TOTAL	133	100%

Les patients de la tranche d'âge 30-40ans étaient les plus représentés avec 33,1% (44/133). L'âge moyen était de 39,29 ans avec comme minimale et maximum d'âges, 10 ans et 80 ans et la médiane était à 38 ans.

Tableau VIII : Répartition des patients en fonction de l'adresse (N=133)

Commune	Effectifs(n)	Pourcentage(%)
Commune I	11	8,3
Commune III	6	4,5
Commune IV	6	4,5
Commune V	30	22,6
Commune VI	68	51,1
Autres	12	9,0
TOTAL	133	100,0

La grande majorité de nos patients étaient de la commune VI et suivi de la commune V avec respectivement 51,1% (n=68) et 22,6% (n=30).

c) L'activité menée.

Tableau IX: Répartition des patients selon l'activité menée (N=133)

Profession	Effectifs(n)	Pourcentage(%)
Agent de santé	5	3,8
Commerçant	10	7,5
Elève/Étudiant	9	6,8
Fonctionnaire	14	10,5
Guide religieux	3	2,3
Autres	21	15,8
Manœuvre	56	42,1
Ménagère	5	3,8
Retraite	10	7,5
TOTAL	133	100,0

Les Manœuvres étaient les plus représentés avec 42,1%(56/133).

5.2. Variable biologique du TDR-Ag et de la PCR

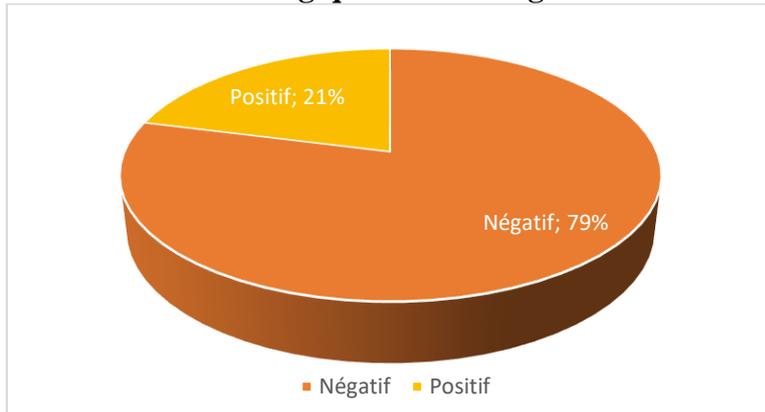


Figure 23: Répartition des patients en fonction des résultats TDR-Ag (N= 133)

Parmi les 133 tests réalisés, 105(79%) étaient négatifs alors que 28(21%) étaient positifs au TDR-Ag.

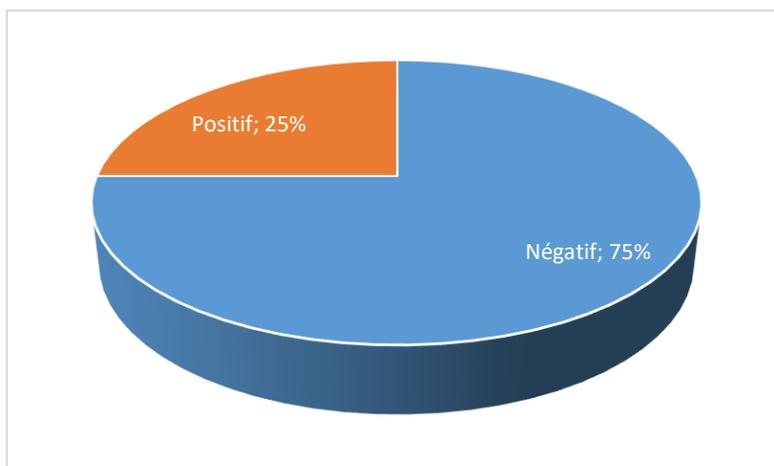


Figure 25: Répartition des patients en fonction des résultats RT-PCR (N= 133)

Parmi les 133 tests réalisés à la RT-PCR, 100 (75%) étaient négatifs alors que 33 (25%) étaient positifs.

Tableau X: Répartition des patients selon le statut vaccinal (N=133)

Vacciné	Effectifs(n)	Pourcentage(%)
NON	77	57,9
OUI	56	42,1
Total	133	100,0

Les patients non vaccinés étaient les plus représentés avec 57,9% (77/133) alors que seulement 42,1%(56/133) étaient vaccinés.

Tableau XI: Répartition des résultats TDR-Ag en fonction de la tranche d'âge (N=133)

Tranche d'Age	TDR-Ag		Total
	Négatif	Positif	
	n(%)	n(%)	n(%)
[10-20[4(100,0)	0(0,0)	4(100,0)
[20-30[25(89,3)	3(10,7)	28(100,0)
[30-40[25(56,8)	19(43,2)	44(100,0)
[40-50[32(97,0)	1(3,0)	33(100,0)
[50-60[8(80,0)	2(20,0)	10(100,0)
[60-70[6(85,7)	1(14,3)	7(100,0)
[70-80[4(66,7)	2(33,3)	6(100,0)
[80-< [1(100,0)	0(0,0)	1(100,0)
TOTAL	105(79,0)	28 (21,1)	133(100,0)

Dans ce tableau, les patients de tranche d'âge 30-40ans étaient les plus représentés avec 43,2%(n=19) des cas positifs pour COVID-19.

Tableau XII: Statut vaccinal et les résultats RT-PCR (N=133)

Vacciné	PCR		Total n(%) n(%)
	Négatif n(%)	Positif n(%)	
NON	62(80,5)	15(19,5)	77(100,0)
OUI	38(67,9)	18(32,1)	56(100,0)
TOTAL	100(75,2)	33(24,8)	133(100,0)

Les patients vaccinés/positif étaient les plus représentés 32,1%(18cas).

Tableau XIII : Positivité du test antigénique rapide et RT-PCR (N=133)

Tests	Nombre des tests effectués	Nombre des positifs	Pourcentage (%)
TDR-Ag	133	28	21,1
PCR	133	33	24,8

La positivité du test antigénique était de 21,1%.

5.3. Calcul des paramètres de performance :

Tableau XIV : Modalité de calcul de la Performance du TDR-Ag

TDR-Ag	PCR		Total
	Positif	Négatif	
Positif	A (Vrais Positifs)	B (Faux Positifs)	A+B
Négatif	C (Faux Négatifs)	D (Vrais Négatifs)	C+D
TOTAL	A+C	B+D	A+B+C+D

Tableau XV : Disposition des données pour le calcul des paramètres de performance

TDR-Ag	RT-PCR		
	Positif	Négatif	Total
Positif	28	0	28
Négatif	5	100	105
TOTAL	33	100	133

5.3.1 Sensibilité (Se)

$$Se = \frac{A}{A+C} = \frac{28}{33} = 0,8485 = 85\%$$

La sensibilité du TDR-Ag était à 85%.

5.3.2. Spécificité(Sp)

$$Sp = \frac{D}{B+D} = \frac{100}{100} = 1 = 100\%$$

La spécificité du TDR-Ag était de 100%.

5.3.3. Valeur Prédictive Positive(VPP)

$$VPP = \frac{A}{A+B} = \frac{28}{28} = 1 = 100\%$$

La valeur prédictive positive du TDR-Ag était de 100%.

5.3.4. Valeur Prédictive Négative

$$VPN = \frac{D}{C+D} = \frac{100}{105} = 0,95 = 95\%$$

La valeur prédictive négative du TDR-Ag était de 95%.

5.4. Paramètres de concomitance des tests:

Tableau XVI : Pourcentage de concordance entre les résultats de TDR-Ag et la RT-PCR

TDR-Ag	PCR		Total n(%)
	Positif n(%)	Négatif n(%)	
Positif	28(100,0)	0(0)	28(100,0)
Négatif	5(4,8)	100(95,2)	105(100,0)
Total	33 (24,8)	100 (75,2)	133(100,0)

Sur les 133 tests RT-PCR réalisés 24,8% (33/133) étaient positifs au COVID-19 en temps réel (Ct ≤ 30), parmi ceux-ci 5(4,8%) ont montrés un résultat négatif TDR-Ag alors que 21,1%(28/133) étaient positifs.

Coefficient Kappa :

$$K = \frac{Po - Pe}{1 - Pe}$$

Po la proportion d'accord observée ou concordance observée.

Pe la proportion d'accord aléatoire ou concordance aléatoire.

La présentation des résultats sous la forme d'un tableau de contingence montre que les deux techniques sont en accord pour 128 patients avec 28 réponses positives concordantes et 100 réponses négatives concordantes (Tableau XIV).

$$Po = (28 + 100) / 133 = \mathbf{0,96}$$

$$Pe = [(28 \times 33) / 133 + (105 \times 100) / 133] / 133 = \mathbf{85,894}$$

D'où :

$$K = \frac{0,96 - 85,894}{1 - 85,894} = \mathbf{1}$$

Suivant le classement de Landis et Koch [46], le Kappa de notre exemple aurait été considéré comme excellent.

6. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS

Cette étude comparative des résultats du TDR-Ag à celui de la RT-PCR faite à partir des échantillons d'écouvillon oropharyngé a eu lieu entre Décembre 2021 à Juin 2022 au laboratoire de biologie moléculaire appliquée de Bamako. A notre connaissance, il s'agit de la première étude évaluant la performance des tests antigéniques rapide COVID-19 au Mali. Le Mali est classé comme pays de priorité 3 (sur une échelle de 3) en termes de risque d'importation de cas de COVID-19, selon une évaluation des pays membres de la Région Afrique de l'OMS [47]. Dans le contexte des tests diagnostiques pour le dépistage du SARS-CoV-2 sont un élément essentiel de la stratégie globale de lutte anti-infectieuse dans le cadre de la COVID-19 [5]. La répartition des tests de laboratoire en 2 catégories principales : les tests de diagnostic et de dépistage. Un test de diagnostic est une approche clinique, testant généralement les personnes symptomatiques pour détecter des signes de maladie alors que le test de dépistage est une approche systématique dans laquelle les personnes asymptomatiques se voient proposer un test qui a une valeur pronostique et, pour ceux dont le dépistage est positif, une intervention peut améliorer efficacement les résultats. Dans le contexte de la COVID-19, l'objectif du dépistage par test antigénique rapide est d'augmenter la détection des infections asymptomatiques ou présymptomatiques et de réduire la transmission ultérieure du SARS-CoV-2.

La problématique du diagnostic biologique du SARS-CoV-2 demeure dans les pays à faible revenu en général et au Mali en particulier. Le diagnostic moléculaire reste très limité, et ce, même dans les grandes villes. La perspective de disposer de résultats en moins de 20 minutes met en lumière le rôle des TDR antigéniques pour le dépistage du SARS-CoV-2 [6]. Le kit RT-PCR OneStep de QIAGEN offre un format pratique pour une RT-PCR hautement sensible et spécifique utilisant n'importe quelle matrice d'ARN. Le kit Qiagen a été utilisé pour l'extraction de l'ARN [48].

Le kit comprend des composants optimisés qui permettent à la fois la transcription inverse et l'amplification par PCR dans le même mélange réactionnel, dans une réaction " en une étape ". Une combinaison unique d'enzymes et un tampon de réaction spécialement développé garantissent une transcription inverse et une PCR efficaces et hautement spécifiques dans un seul tube, sans besoin d'optimisation .

L'extraction de l'ARN était réalisé manuellement ; les échantillons étaient traités par la plateforme de PCR en temps réel de type Onestep Plus™. Cette plateforme est dotée d'agent fluorochromes, notamment les TaqMan® MGB à base de sondes marquées aux colorants comme ROX, TAMRA, FAM et VIC®. Cette plateforme avec la possibilité de labélisation des amorces avec des sondes spécifiques offre une spécificité et une sensibilité exceptionnelles lors

du diagnostic moléculaire. Au cours de notre étude, les gènes cibles étaient essentiellement ORF1, NGENE, SGENE et MS2.

Outre la réduction des délais de 1h 45 minutes pour la PCR SARS-CoV-2 à 15 et 10 minutes pour les tests rapides antigéniques, nous avons noté une grande souplesse d'utilisation des tests rapides qui ne nécessitent pas une expertise particulière [49]. D'après une autre étude de Mbopi-Keou FX, et al. en Décembre 2020 au Cameroun, ceci peut pallier aux grands délais de remise des résultats des PCR qui en l'occurrence prennent plus de temps (3 à 24 heures) [50].

L'approche consistait au dépistage des patients pour identifier les cas d'infection au COVID-19. La population d'étude était constituée par un échantillon de 133 patients. Cette étude a impliqué 75,94% sujets de sexe masculin contre 24,06% de sexe féminin; soit une sex-ratio (M/F) de 3,17 (Tableau VI). Il convient de retenir que les hommes étaient les plus représentés que les femmes. Pour l'analyse de la fréquence d'âge dans notre population d'étude, nous avons défini huit (8) classes d'âges. C'était la tranche d'âge 30-40ans la plus représentée avec 33,1% que les autres tranches et une moyenne d'âge de 39,29ans (Tableau VII), des résultats similaires ont été trouvés dans une étude menée en Ouganda par Aminah N. et al sur une évaluation sur le terrain des performances d'un test de diagnostic rapide de l'antigène SARS-CoV-2 à l'aide d'échantillons nasopharyngés en 2020.

L'étude nous a permis de savoir que la majorité des patients n'étaient pas vaccinés 57,9% cela prouve une réticence de la population à se faire vacciner (Tableau X). Dans les analyses de régression multiple, l'hésitation à la vaccination a été prédite de manière significative par le sexe, l'éducation, l'emploi, le revenu et la menace perçue d'être infecté par le COVID-19 au cours de l'année suivante [6]. Il y avait des Cas de percée avec la variante Delta chez les patients vaccinés avec des valeurs initiales de Ct qui étaient indiscernables de celles survenant chez les personnes non vaccinées [51].

A noté que parmi le 42,1% vaccinés certains n'avaient pas fait la vaccination au complet, Dans la littérature scientifique, il n'existe actuellement aucun indicateur de protection, Le taux élevé de positivité chez les personnes vaccinées peut s'expliquer par la présence d'anticorps contre le virus, du moment où le vaccin est allé déclencher une réponse immunitaire. Malgré la vaccination un pourcentage d'individus peut-être infecté par le virus SARS-CoV-2. La pratique répétée de reverse-transcriptase polymérase-chain-reaction(RT-PCR) sur prélèvements nasobucco-pharyngée a montré que la charge virale était plus élevée lors des premiers jours de symptômes et qu'elle diminuait jusqu'au 11^{ème} jour [27].

La positivité du test antigénique rapide et du RT-PCR étaient respectivement 21,0% et 24,8%. La durée de positivité de la RT-PCR pouvait s'étendre jusqu'à 25 jours après l'apparition des

premiers symptômes rapportés dans une étude chinoise. Ces études suggèrent que la contagiosité est probablement plus importante lors des premiers jours de symptômes et qu'elle pourrait persister plus de trois semaines. Il convient de noter que 5(4,76%) étaient faux négatif au TDR-Ag (Tableau XVI), cela est dû au fait que les TDR-Ag sont moins sensibles que les tests portant sur les acides nucléiques. Dans cette évaluation, la sensibilité du test antigénique rapide était de 85%, la spécificité était de 100%. Ces résultats étaient comparables à celui trouvés par Weitzel T. et al. Sur l'évaluation d'un nouveau test de détection rapide basé sur l'antigène pour le diagnostic du SARS-CoV-2 dans des échantillons respiratoires en 2020, par ailleurs celle conduite par Onsongo SN, et al. Sur la réalisation d'un test antigénique pour le SRAS-CoV-2 au Kenya ont trouvés pour la sensibilité et la spécificité respectivement 71,5% et 95,5%.

D'après l'OMS, les tests antigéniques du SARS-CoV-2 avec une sensibilité ≥ 80 % et une spécificité ≥ 97 % par rapport au test RT-PCR de référence, peuvent être utilisés pour diagnostiquer une infection à SARS-CoV-2 quand les RT-PCR ne sont pas disponibles ou que l'utilité clinique du dépistage serait compromise par des délais trop longs d'obtention des résultats [52]; tant dis que la Valeur prédictive négative était de 95% et la Valeur prédictive positive était de 100%. Il y avait une concordance excellente avec une valeur du test kappa égale à 1. En raison de la sensibilité variable des tests antigéniques, les personnes dont le test est négatif peuvent toujours être infectées. La spécificité n'a pas été affectée par la présence ou l'absence de symptômes [53].

Un résultat positif de RT-PCR ne signifiant pas nécessairement que le virus est vivant et qu'il est infectieux. Ainsi, les TDR-VivaDiag™ ne sont pas recommandés comme outils de surveillance en conditions de faible circulation du virus, le test par RT-PCR reste le test de référence.

7. CONCLUSION

Notre étude comparative est une étude analytique des TDR-Ag.

Cette étude qui avait pour but d'évaluer la performance des TDR-Ag par rapport à la RT-PCR (comme référence) et de déterminer la validité et faisabilité dans la population nous a permis d'aboutir aux conclusions suivantes :

Les TDR-Ag ont montré une sensibilité adéquate pour identifier les cas d'infection et peuvent être utilisés à bon escient dans les programmes de dépistage; ainsi que identifier régulièrement les personnes infectées par le SRAS-CoV-2 qui sont asymptomatiques. Par ailleurs, les tests antigéniques rapides ont des limites de détection plus élevées que les tests PCR, il existe encore un certain pourcentage de résultats faussement négatifs. Cependant, notre évaluation met en évidence l'importance d'effectuer des tests conformément aux procédures recommandées par les fabricants et conformément à la directive standard d'évaluation et de rapport de diagnostic. Comme cela a été mentionné plus haut, le test PCR reste le plus sensible et spécifique pour le dépistage par diagnostic clinique du SARS-CoV-2, mais les TDR-Ag ouvrent des possibilités dans les cas où les tests PCR ne sont pas disponibles partout et où l'utilité du dépistage du point de vue clinique et de santé publique serait compromise par des délais trop longs d'obtention des résultats [54].

Contribution de notre étude à la connaissance

- La sensibilité et la spécificité du TDR-Ag répondent aux exigences de performance de l'OMS avec 85% de sensibilité et 100% de spécificité;
- Le TDR-Ag peut être d'un grand intérêt dans les dépistages de masse et le diagnostic de SARS-CoV-2 dans des zones où la PCR demeure d'accès limité.

Limite de notre étude

- La performance du TDR-Ag et du PCR pour la détection du nouveau coronavirus (SARS-CoV-2) a été établie à l'aide d'échantillons de frottis oropharyngés ;
- Les échantillons doivent être collectés, transportés et stockés selon des procédures et des conditions appropriées. Une collecte, un transport ou un stockage inappropriés des échantillons peuvent entraver la capacité des tests ;
- Le résultat est destiné uniquement à des fins de référence clinique, et la prise en charge des patients doit être en fonction de leurs symptômes, de leurs antécédents.

8. RECOMMANDATIONS

Les résultats obtenus à la suite de ce travail nous amènent à formuler quelques suggestions, notamment à l'endroit :

DU MINISTERE DE LA SANTE :

- Collaborer avec des partenaires financiers et techniques qui disposent de ressources liées à la COVID-19 ;
- Soutenir les programmes de recherches en vue de contribuer à lutter efficacement contre la survenue de pathogènes à haute virulence
- Mener des activités de dépistage des individus asymptomatiques à haut risque de COVID-19, notamment les agents de santé, les contacts de cas et les autres individus à risque ;
- Renforcer la sensibilisation et la communication pour garantir l'application des mesures barrières (port de masque, lavage des mains et distanciation sociale).

Au LBMA et ses Partenaires :

- Insister sur l'utilisation des tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN) pour le diagnostic de l'infection par le SARS-CoV-2 ;
- Poursuivre les études sur le séquençage génomique dans l'optique de réussir à séquencer des régions plus grandes ;
- Perpétuer les financements pour la recherche et la formation des chercheurs, étudiants et personnels de santé en vue d'améliorer nos connaissances sur ces pathogènes ;
- Poursuivre la réalisation des tests de dépistage pour les voyageurs.

9. REFERENCES

1. ELMADKOURI.H- Covid 19 à l'hôpital Militaire Avicenne de Marrakech Maroc Bases virologiques, épidémiologiques, cliniques et évolutives – Thèse. Med 2021 n°2 [Internet]. [cité 22 nov 2022]. Disponible sur: <http://wd.fmpm.uca.ma/biblio/theses/annee-htm/FT/2021/these06-21.pdf>
2. CHAPITRE38_CORONAVIRUS_TVM2019 [Internet]. [cité 24 nov 2022]. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/04/CHAPITRE38_CORONAVIRUS_TVM2019.pdf
3. franceinfo [Internet]. [cité 24 nov 2022]. Disponible sur: https://www.francetvinfo.fr/monde/afrique/societe-africaine/afrique-loms-multiplie-par-cinq-les-chiffres-de-la-mortalite-liee-a-la-pandemie-de-covid-19_5141428.html%20Publi%20C3%A9%20le%2016/05/2022%2015:44Mis%20C3%A0%20jour%20le%2016/05/2022%2015:44
4. RAPPORT SITUATION COVID-19 au Mali [Internet]. [cité 24 nov 2022]. Disponible sur: <https://reliefweb.int/report/mali/rapport-de-situation-covid-19-au-mali-30-mai-au-05-juin-2022-ndeg202>
5. Organisation mondiale de la Santé. Détection des antigènes pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2 Orientation provisoire 6 octobre 2021 [Internet]. [cité 24 nov 2022]. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/342903/WHO-2019-nCoV-lab-testing-2021.1-fre.pdf>.
6. Organisation Mondiale de la Santé. Détection des antigènes à l'aide de tests immunologiques rapides pour le diagnostic de l'infection à SARSCoV- 2020, Genève.
7. W. Guan, Z. Ni, Yu Hu, W. Liang, C. Ou, J. He. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.*382, 1708– 1720 (2020).
8. Organisation mondiale de la Santé. Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19, document d'information scientifique, avril 2020. (WHO/2019-nCoV/Sci_Brief/POC_immunodiagnosics/2020,1).
9. WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard [Internet]. [cité 24 nov 2022]. Disponible sur: [https://covid19.who.int./](https://covid19.who.int/)
10. Mousavizadeh, L. & Ghasemi, S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* S1684118220300827 (2020) doi:10.1016/j.jmii.2020.03.022.
11. Yuntao Wu, Wenzhe Ho, Yaowei Huang, Dong-Yan Jin, Shiyue Li, Shan-Lu Liu. SARS-CoV-2 is an appropriate name for the new coronavirus. *The Lancet* 395, 949–950 (2020).
12. Hoque, M. N., Chaudhury, A., Akanda, M. A. M., Hossain, M. A. & Islam, M. T. Genomic diversity and evolution, diagnosis, prevention, and therapeutics of the pandemic COVID-19 disease. *PeerJ* 8, e9689 (2020).

13. Bonny, V., Maillard, A., Mousseaux, C., Plaçais, L. & Richier, Q. COVID-19 : physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. *Rev. Médecine Interne* 41, 375–389 (2020).
14. Yuefei Jin , Haiyan Yang , Wangquan Ji, Weidong Wu, Shuaiyin Chen , Weiguo Zhang. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses* 12, 372 (2020).
15. Elahe Seyed Hosseini, Narjes Riahi Kashani, Hossein Nikzad, Javid Azadbakht, Hassan Hassani Bafrani, Hamed Haddad Kashani. The novel coronavirus Disease-2019 (COVID-19): Mechanism of action, detection and recent therapeutic strategies. *Virology* 551, 1–9 (2020).
16. Jamai Amir, I., Lebar, Z., yahyaoui, G. & Mahmoud, M. Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio* 31, 15–20 (2020).
17. Silvia Angeletti, Domenico Benvenuto, Martina Bianchi, Marta Giovanetti, Stefano Pascarella, Massimo Ciccozzi. COVID-2019: The role of the nsp2 and nsp3 in its pathogenesis. 5.
18. Aiping Wu, Yousong Peng, Baoying Huang, Xiao Ding, Xianyue Wang, Peihua Niu. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell Host Microbe* 27, 325–328 (2020).
19. Xiaolu Tang , Changcheng Wu, Xiang Li, Yuhe Song, Xinmin Yao, Xinkai Wu. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *Natl. Sci. Rev.* 7, 1012–1023 (2020).
20. Prasad, N., Gopalakrishnan, N., Sahay, M., Gupta, A. & Agarwal, S. Epidemiology, genomic structure, the molecular mechanism of injury, diagnosis and clinical manifestations of coronavirus infection: An overview. *Indian J. Nephrol.* 30, 143 (2020).
21. Juckel, D., Dubuisson, J. & Belouzard, S. Les coronavirus, ennemis incertains. *médecine/sciences* 36, 633–641 (2020).
22. Daniel Blanco-Melo, Benjamin E. Nilsson-Payant, Wen-Chun Liu, Skyler Uhl, Daisy Hoagland, Rasmus Møller. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell* 181, 1036-1045.e9 (2020).
23. Shereen, M. A., Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N. & Siddique, R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J. Adv. Res.* 24, 91–98 (2020).
24. Jasper Fuk-Woo Chan, Shuofeng Yuan, Kin-Hang Kok, Kelvin Kai-Wang To, Hin Chu, Jin Yang.
25. Rapport relatif à l'actualisation de la prise en charge des patients atteints de Covid-19. 291.
26. Plebani M, Parčina M, Bechri I, Zehender G, Terkeš V, Abdel Hafith B, et al. Performance of the COVID-19 SEROSpeed IgM/IgG Rapid Test, an immunochromatographic assay for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection: a multicenter European study. *J Clin Microbiol* 2021 ; 59 : e02240-20.

27. 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. Médecine Interne* 41, 308–318 (2020).
28. Robert Verity, Lucy C Okell, Ilaria Dorigatti, Peter Winskill, Charles Whittaker, Natsuko Imai. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. *Lancet Infect. Dis.* 20, 669–677 (2020).
29. Nouveau coronavirus (2019-nCoV): conseils au grand public. <https://www.who.int/fr/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public>.
30. Aakriti Gupta, Mahesh V. Madhavan, Kartik Sehgal Nandini Nair, Shiwani Mahajan, Tejasav S. Sehrawat. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat. Med.* 26, 1017–1032 (2020).
31. Ning Tang, Huan Bai, Xing Chen, Jiale Gong, Dengju Li, Ziyong Sun. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J. Thromb. Haemost.* 18, 1094–1099 (2020).
32. Carly G.K. Ziegler, Samuel J. Allon, Sarah K. Nyquist, Ian M. Mbanjo, Vincent N. Miao, Constantine N. Tzouanas. SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues. *Cell* 181, 1016-1035.e19 (2020).
33. Stephens, D. S. & McElrath, M. J. COVID-19 and the Path to Immunity. *JAMA* 324, 1279 (2020).
34. Fei Zhou, Ting Yu, Ronghui Du, Guohui Fan, Ying Liu, Zhibo Liu. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet* 395, 1054–1062 (2020).
35. Pavan K. Bhatraju, Bijan J. Ghassemieh, Michelle Nichols, Richard Kim, Keith R. Jerome, Arun K. Nalla. Covid-19 in Critically Ill Patients in the Seattle Region — Case Series. *N. Engl. J. Med.* 382, 2012–2022 (2020).
36. Balkan Medical Union & Diaconu, C. COVID-19 and hyponatremia. *Arch. Balk. Med. Union* 55, 373–374 (2020).
37. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis* 2020 ; 71 : 778-85.
38. Gala, J.-L., Nyabi, O., Durant, J.-F., Chibani, N. & Bentahir, M. Méthodes diagnostiques du COVID-19. 8.
39. Lefeuvre, C., Przyrowski, É. & Aulaire-Marchais, V. Aspects virologiques et diagnostic du coronavirus Sars-CoV-2. *Actual. Pharm.* 59, 18–23 (2020).
40. Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Fast Nucleic Acid Detection Kit (PCR-Fluorescence Probing) For in vitro diagnostic use 2020-05-21.
41. B. POZZETTO, M. DELOLME1, J. RIGAILL1,2 et al. Les tests de diagnostic virologique de la Covid-19. *Revue de Biologie Médicale /N° 359 - MARS-AVRIL 2021.*

42. Li Guo, Lili Ren, Siyuan Yang, Meng Xiao, De Chang, Fan Yang. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin. Infect. Dis.* 71, 778–785 (2020).
43. Sethuraman, N., Jeremiah, S. S. & Ryo, A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA* 323, 2249 (2020).
44. Quan-Xin Long, Xiao-Jun Tang, Qiu-Lin Shi, Qin Li, Hai-Jun Deng, Jun Yuan. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat. Med.* 26, 1200–1204 (2020).
45. Shamier MC, Tostmann A, Bogers S, et al. Virological Characteristics of SARSCoV-2 Vaccine Breakthrough Infections in Health Care Worker. doi:10.1101/2021.08.20.21262158).
46. LANDIS JR, KOCH GG - The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977a ; 33 : 159-174.
47. Organisation mondiale de la santé [Internet]. [cité 24 nov 2022]. Disponible sur: https://www.humanitarianresponse202002.info/sites/www.humanitarianresponse.info/files/documents/files/oms_covid-19-dakar_-27.pdf
48. Qiagen OneStep RT-PCR Kit : [Internet]. [cité 24 nov 2022]. Disponible sur: <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/pcr-qpcr-dpcr/pcr-enzymes-and-kits/one-step-rt-pcr/qiagen-onestep-rt-pcr-kit/>
49. Ngaba GP, Kalla GCM, Assob JCN, Njouendou AJ, Jembe CN, Mboudou ET, et al. Evaluation de deux tests de diagnostic antigénique du COVID-19: BIOSYNEX® COVID-19 Ag BSS et BIOSYNEX® COVID-19 Ag+ BSS comparés à la PCR AmpliQuick® SARS-CoV-2. *Pan Afr Med J.* 6 août 2021;39:228.
50. Mbopi-Keou FX, Pondi JE, Sosso MA. COVID-19 in Cameroon: a crucial equation to resolve. *Lancet Infect Dis.* 2020 Dec;20 (12): 1367-1368. PubMed| Google Scholar.
51. Brown CM, Vostok J, Johnson H, et al. Outbreak of SARS-CoV-2 infections, including COVID-19 vaccine breakthrough infections, associated with large public gatherings - Barnstable County, Massachusetts, July 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2021;70(31):1059–62.
52. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays [Internet]. [cité 24 nov 2022]. Disponible sur: <https://www.who.int/publications/i/item/antigen-detection-in-the-diagnosis-of-sars-cov-2-infection-using-rapid-immunoassays>
53. Organisation mondiale de la santé, Directives sur les outils de détection et de surveillance des variants du SARS-CoV-2 Directives provisoires Version 1.0, 12 août 2021.
54. Organisation mondiale de la Santé. Détection des antigènes à l'aide de tests immunologiques rapides pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2, orientations provisoires, 11 septembre 2020. (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/334409/WHO-2019-nCoV-Antigen_Detection-2020.1-fre.pdf).

10. ANNEXES

○ FICHE DE RENSEIGNEMENT

N°	Nom et Prénoms	sexe	Age	fonction	adresse	Lieu d'embarquement voyageur	Signes	Statut vaccinal	TDR	PCR

○ Protocole d'extraction de l'ARN du SARS-CoV-2 avec le kit Qiagen OneStep :

1. Décongeler l'ARN matrice, les solutions d'amorces, le mélange dNTP, le tampon RT-PCR OneStep de QIAGEN 5x, Q-Solution, et l'eau exempte de RNase, et les placer sur de la glace.
2. Préparer un master mix selon le tableau III.
3. Mélangez soigneusement le master mix, et distribuez les volumes appropriés dans les tubes PCR.
4. Ajoutez l'ARN matrice (≤ 2 μg /réaction) dans les tubes PCR individuels.
5. Lorsque vous utilisez un thermocycleur avec un couvercle chauffant, n'utilisez pas d'huile minérale. Passez à directement à l'étape 6.
6. Programmez le thermocycleur selon le programme décrit dans le tableau III.
7. Démarrer le programme RT-PCR alors que les tubes PCR sont encore sur la glace. Attendre que le thermocycleur cycle ait atteint 50°C. Placer ensuite les tubes PCR dans le thermocycleur.

Il faut disposer de : portoir de tubes 1,5ml, vortex, Ethanol 96-100%, pipettes de [20, 200, 1000 μL], centrifugeuse de tube 1,5ml.

Toutes les étapes de centrifugation doivent se faire à la température ambiante (18-25°C)

Avant de commencer il faut :

S'assurer que les buffers AW1 et AW2 ont été préparés avec de l'alcool comme indique dans le guide du kit.

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : DIARRA

Prénom : Cheick Oumar

Tel : (00223) 74 10 61 88 **E-mail :** diarracheickoumar12@gmail.com

Titre de la thèse : Evaluation de la performance des tests TDR-Ag par rapport à la PCR dans le diagnostic SARS-CoV-2.

Nationalité : Malienne

Année Universitaire : 2021-2022

Ville de soutenance : Bamako-Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Secteur d'intérêt : Epidémiologie, Virologie, Pharmacologie, Biologie

RESUME

La pandémie à COVID-19 pose des problèmes de diagnostic biologique qui restent d'actualité dans les pays à faible revenu en général et au Mali en particulier. L'identification de l'ARN viral à l'aide de la réaction en chaîne par polymérase quantitative de transcription inverse (RT-qPCR) est la référence absolue pour le diagnostic en laboratoire de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19). Les limites de la RT-qPCR telles que l'exigence d'instruments coûteux, de personnel qualifié et d'installations de laboratoire ont conduit au développement de tests antigéniques rapides (RAT). D'où la recommandation par l'OMS sur l'utilisation des TDR-Ag chez des populations spécifiques et dans des environnements particuliers, y compris les agents de santé asymptomatiques. Nous avons mené une étude comparative de Décembre 2021 à Juin 2022 sur l'évaluation de la performance des TDR-Ag par rapport à la PCR dans le diagnostic du SARS-CoV-2 au laboratoire de biologie moléculaire appliquée de Bamako. La population d'étude est un échantillon de 133 patients, le sexe masculin est le plus représenté 75,9%, la majorité des patients n'étaient pas vaccinés 57,9%, le TDR-Ag était de 21,0% (28/133) positifs ailleurs il avait 4,8% de faux positif, ainsi la sensibilité était de 85% et la spécificité de 100%. Cependant la Valeur prédictive négative était de 95% et la Valeur prédictive positive était de 100%.

Mots clés : COVID-19, Performance, Sensibilité, Spécificité, TDR-Ag, RT-PCR.

IDENTIFICATION SHEET

Name : DIARRA

First Name : Cheick Oumar

Tel : (00223) 74 10 61 88 E-mail : diarracheickoumar12@gmail.com

Title of the thesis: Evaluation of the performance of TDR-Ag tests versus PCR in the diagnosis of SARS-CoV-2.

Nationality: Malian

Academic year: 2021-2022

City of defense: Bamako-Mali

Place of deposit: Library of the Faculty of Medicine, Pharmacy and Odontostomatology.

Focus area : Epidemiology, Virology, Pharmacology and Biology

SUMMARY

The COVID-19 pandemic poses biological diagnostic challenges that remain relevant in low-income countries in general and in Mali in particular. The identification of viral RNA using quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) is the gold standard for laboratory diagnosis of coronavirus 2019 (COVID-19). The limitations of RT-qPCR such as the requirement for expensive instruments, trained personnel and laboratory facilities have led to the development of rapid antigen tests (RATs). Hence the recommendation by WHO on the use of RAT-Ag in specific populations and settings, including asymptomatic health workers. We conducted a comparative study from December 2021 to June 2022 on the evaluation of the performance of Ag-RT versus PCR in the diagnosis of SARS-CoV-2 in the Applied Molecular Biology Laboratory of Bamako. The study population was a sample of 133 patients, the male sex was the most represented 75.9%, the majority of patients were not vaccinated 57.9%, the Ag-RT was 21.0% (28/133) positive elsewhere it had 4.8% of false positive, so the sensitivity was 85% and the specificity 100%. However the Negative Predictive Value was 95% and the Positive Predictive Value was 100%.

Key words : COVID-19, Performance, Sensitivity, specificity, TDR-Ag, RT-PCR.

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, 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 couverte d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y

manque.

Je le jure.