



Université Mohammed V- Souissi
Faculté de Médecine et de
Pharmacie de Rabat



MS 0462021

MEMOIRE DE FIN DE SPECIALITE EN ANALYSES
BIOLOGIQUES MEDICALES

CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES,
CLINIQUES ET VIROLOGIQUES DES
PATIENTS ATTEINTS DE LA COVID-19 A
L'HMIMV.

Présenté et soutenu publiquement par :

Dr. Christiana Philippa Linanipo NAHM-TCHOUGLI

*Pour l'Obtention du Diplôme National de Spécialité
Médicale En Analyses Biologiques Médicales*

Encadré par: Pr. Tagajdid Mohamed Rida

DEDICACES ET REMERCIEMENTS



*Ton amour pour moi Père surabonde et ton cœur distille grâces abondantes et bénédictions
sur moi.*

*Dieu d'amour et de toute éternité, que Ton Saint Nom soit béni en Jésus Christ !
Ce travail est l'œuvre de ta grâce.*



*A mon cher époux Dr Gethro BORGELYN et ma tendre fille Dorothee-Rhoseth
A mes parents Mr Jean de la Croix et Mme Caroline ; Mr Claude et Mme Rosette
A mes frères et mes sœurs dans la chair et dans la foi*



*A Mr le Professeur Tagajdid Mohamed Rida
Professeur assistant en Microbiologie – Biologiste au Laboratoire de Virologie à
l'Hôpital Militaire d'instruction Mohamed V - Rabat.
Je vous remercie pour votre sympathie, votre disponibilité et votre bonne disposition à
transmettre vos connaissances.*

*A mes Maitres et Professeurs Membres du jury,
Merci pour vos enseignements de qualité et votre accompagnement.
Merci d'avoir accepté de participer à ce jury et pour l'intérêt que vous portez à ce travail.
Je vous prie d'accepter mes considérations les plus respectueuses.*

*A mes Maitres et Professeurs,
Aux biologistes,
A mes collègues résidents et internes,
Aux techniciens et techniciennes,*

*A vous tous qui avez contribué à ma formation et à faire de mon séjour au Maroc une
expérience unique ...
Recevez mes sincères remerciements !*



Liste des abréviations

ACE2: Angiotensin-Converting Enzyme 2
ADN: Acide desoxyribonucléique
ADNc: Acide desoxyribonucléique complémentaire
ADNdb: Acide desoxyribonucléique double brin
ADNsb: Acide desoxyribonucléique simple brin
ANOVA: Analyse Of Variance
ARN: Acide Ribonucléique
AVC: Accident Vasculaire Cérébral
BPCO: Bronchopathie Chronique Obstructive
CDC: Centers for Disease Control and Prevention
CLIA : Chemiluminescent Immunoassays
COVID-19: Coronavirus Disease 2019
CRP: C Reactive Protein
CT: Cycle Treshold
dNTP : desoxyribonucléotide phosphate
ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FFP1 : Filtering Facepiece 1
FFP2 : Filtering Facepiece 1
hACE2 : human Angiotensin-Converting Enzyme 2
HE : Hémagglutinine
HRP : Horseradish Peroxidase
HTA : HyperTension Artérielle
LAMP : Loop-mediated isothermal Amplification
LBA : Lavage Broncho-Alvéolaire
MERS : Middle East respiratory syndrome
NTD : N-terminal Domain
NP : Protéine de la Nucléocapside

OMS : Organisation Mondiale de a Santé

ORF : Open Reading Frame

PCR : Polymerase Chain Reaction

RBD : Receptor Binding Domain

RdRp: RNA dependant RNA Polymerase

RT : Reverse Transcription

RT-LAMP : Reverse Transcription -Loop-mediated isothermal Amplification

RT-PCR : Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction

SARS : Severe Acute Respiratory Syndrome

SARS-CoV- 2 : Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

TDM : Tomodensitométrie

TDR: Test Diagnostic Rapide

TROD : Test Rapide d'Orientation Diagnostic

UTR : Untranslated Transcribed Region

VEGF : Vascular endothelial growth factor

Figure 1: Chronologie de l'évolution de la pandémie du SARS-CoV-2 dans le monde (Décembre 2019 à Décembre 2020) (18)	6
Figure 2: Evolution des cas de COVID-19 au MAROC (jusqu'à Juin 2021) (19)	6
Figure 3: Classification et phylogénie des Coronavirus(21)	8
Figure 4: Structure du SARS-COV 2(26).....	10
Figure 5 : Structure du génome du SARS-CoV-2(14)	11
Figure 6: Cycle de réplication viral du SARS-COV 2(23).....	13
Figure 7: Réservoir du virus(26)	15
Figure 8: Transmission du SARS-CoV-2(44)	16
Figure 9: Condensations en verre dépoli basales bilatérales, sous-pleurales, caractéristiques de la maladie(55)	19
Figure 10: Aspects cliniques de la COVID-19(21).....	20
Figure 11: Organisation du génome du SARS-CoV-2 et positions relatives des cibles génétiques détectées à l'aide de réactions en chaîne par polymérase à transcription inverse (RT-PCR)(62).....	24
Figure 12: Le principe de la RT-PCR(62).....	24
Figure 13: Exemple de courbe d'amplification par PCR en temps réel (en log)(65)	25
Figure 14: Estimation de la variation dans le temps des tests de diagnostic pour la détection de l'infection par le SRAS-CoV-2 par rapport à l'apparition des symptômes(63)	29
Figure 15: Répartition des cas positifs selon l'âge	40
Figure 16: Répartition des cas selon le sexe	41
Figure 17: Différentes manifestations cliniques	41
Figure 18: Répartition des différentes comorbidités.....	42
Figure 19: Taux de positivité et de négativité de la RT-PCR en fonction du temps	43
Figure 20: Statistique descriptive du délai de négativation de la RT-PCR en fonction du sexe	45
Figure 21 : Statistique descriptive du délai de négativation de la RT-PCR en fonction de l'âge	46
Figure 22: Diagramme Quantile-Quantile de vérification de la normalité du facteur sexe	47
Figure 23: Diagramme de Levene de vérification de l'homogénéité du facteur sexe	47
Figure 24: Diagramme Quantile-Quantile de vérification de la normalité du facteur âge	48
Figure 25: Diagramme de Levene de vérification de l'homogénéité du facteur âge.....	49

CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES, CLINIQUES ET VIROLOGIQUES DES
PATIENTS ATTEINTS DE LA COVID-19 A L'HMIMV.

Tableau 1: Agents désinfectants actifs contre le SARS-CoV-2.....	14
Tableau 2: Types de prélèvements respiratoires pour le diagnostic moléculaire	21
Tableau 3: Tableau comparatif des techniques d'extraction de l'ARN viral du SARS-CoV-2 (59).....	22
Tableau 4: Potentielles thérapeutiques contre le SARS-CoV-2(21).....	32
Tableau 5 : Statistique descriptive du délai de négativation de la RT-PCR en fonction du sexe.....	44
Tableau 6 : Statistique descriptive du délai de négativation de la RT-PCR en fonction de l'âge	45
Tableau 7: Analyse de la variance au facteur sexe	48
Tableau 8 : Analyse de la variance au facteur âge.....	49
Tableau 9: Analyse de la variance à deux facteurs combinés: Sexe et âge	50
Tableau 10: Analyse de la variance à l'âge non groupé par classe	50
Tableau 11: comparaison des différents symptômes de la COVID-19 retrouvés dans la littérature	52

Table des matières

INTRODUCTION	1
PARTIE I : RAPPELS GENERAUX.....	2
I. Rappels historiques	3
1) Les Coronavirus humain-229E, -OC43, -NL63 et -HKU1.....	3
2) Pandémie de 2002 : Le SARS-CoV.....	4
3) L'épidémie de 2012: le MERS-CoV.....	4
4) La pandémie de 2019 : Le SARS-CoV-2.....	5
II. Caractéristiques virologiques du SARS-CoV-2.....	7
1) Classification et phylogénie	7
2) Structure	9
3) Génome	10
4) Cycle viral.....	11
5) Propriétés physico-chimiques	13
III. Caractéristiques épidémiologiques de la pandémie du COVID-19.....	14
1) Réservoir du virus	14
2) Modes de transmission	15
3) Facteurs de risque et réceptivité	16
IV. Physiopathologie	17
V. Manifestations cliniques de la COVID-19.....	18
1) Durée d'incubation et de contagion	18
2) Formes asymptomatiques	18
3) Formes symptomatiques.....	18
4) Les formes graves et modes d'évolution	19
VI. Méthodes du diagnostic virologique	20
1) Diagnostic direct moléculaire	21

CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES, CLINIQUES ET VIROLOGIQUES DES
PATIENTS ATTEINTS DE LA COVID-19 A L'HMIMV.

a) Mesures de protection	21
b) Les types de prélèvements	21
c) Préparation des échantillons	21
d) Les techniques d'analyses moléculaires	22
2) Méthodes de diagnostic direct antigénique	26
3) Diagnostic sérologique	27
VII. Traitement.....	30
1) Prise en charge de la COVID-19 bénigne à modérée	30
2) Traitement de la COVID-19 sévère.....	30
3) Les traitements antiviraux potentiels	30
VIII. Prévention.....	33
1) Mesures non spécifiques : les gestes barrières.....	33
2) Les mesures spécifiques : la vaccination.....	33
PARTIE II: CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES, CLINIQUES ET VIROLOGIQUES DES PATIENTS ATTEINTS DE LA COVID-19 A L'HMIMV	36
I. Matériels et méthodes	37
1) Type, lieu et période de l'étude	37
2) Recueil des données.....	37
3) La RT-PCR.....	38
a. Réalisation et acheminements des prélèvements.....	38
b. L'extraction de l'ARN viral.....	39
c. Réalisation de la RT-PCR au laboratoire.....	39
e) Analyse statistique	39
II. Résultats	40
1) Données épidémiologiques	40
a. Distribution des cas d'infection en fonction de l'âge.....	40

b.	Distribution des cas d'infection en fonction du sexe	40
2)	Données cliniques	41
3)	Données du diagnostic virologique	42
a.	Taux de positivité de la RT-PCR.....	42
b.	Période de positivité et de négativité.....	43
4)	Statistique descriptive du profil dynamique de la RT-PCR en fonction des données épidémiologiques	44
a.	Statistique descriptive du délai de négatation de la RT-PCR en fonction du sexe	44
b.	Statistique descriptive du délai de négatation de la RT-PCR en fonction de l'âge	45
5)	Analyse de l'effet des facteurs épidémiologiques sur le profil dynamique	46
a.	Effet du sexe sur le délai de négatation de la RT-PCR.....	46
b.	Effet de l'âge sur le délai de négatation de la RT-PCR.....	48
c.	Effet combiné du sexe et de l'âge sur le délai de négatation de la RT-PCR (ANOVA II) 50	
d.	Effet de l'âge (non regroupé en classe) sur le délai de négatation de la RT-PCR.....	50
III.	Discussion	51
1)	Caractéristiques épidémiologiques	51
2)	Caractéristiques cliniques.....	52
3)	Caractéristiques virologiques.....	53
4)	Limites de l'étude	53
	CONCLUSION.....	54
	RESUME	55
	SUMMARY.....	56
	Résumé en Arabe.....	57
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	64

INTRODUCTION

En décembre 2019, une nouvelle maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) associé au syndrome respiratoire aigu sévère a pris naissance à Wuhan, dans la province de Hubei en Chine (1). Ensuite, elle s'est vite répandue à travers l'Europe et dans le reste du monde devenant rapidement une pandémie. Les manifestations cliniques des patients atteints de COVID-19 comprenaient la fièvre, la dyspnée, la fatigue, la toux sèche, la myalgie, la lymphopénie et les anomalies radiographiques de la pneumonie. Dans les cas graves, les patients souffraient du syndrome de détresse respiratoire aiguë, d'une insuffisance respiratoire aiguë, d'autres complications graves avec une issue fatale(2). La transmission présumée de personne à personne du SARS-CoV-2 a été suggérée sur la base de l'épidémiologie et des preuves cliniques (3,4); des rapports suggérant que des personnes infectées par le COVID-19 asymptomatiques pourraient également être la source de la transmission (5). Pour contenir efficacement l'épidémie de SARS-CoV-2, les interventions de santé publique se sont basées sur le dépistage des cas positifs, le traitement et l'isolement des malades. La RT-PCR a donc été désignée comme le test de référence pour le diagnostic positif des cas de COVID-19 par la détection de l'ARN viral dans les prélèvements respiratoires faits chez les patients.

C'est le 3 mars 2020 que le Maroc enregistra son tout premier cas positif et huit jours après son premier cas de décès (6,7). Lorsque la transmission locale a été révélée le 12 mars 2020, des mesures ont été prises afin d'endiguer la propagation de la pandémie (8). Au terme de ce premier mois le Maroc enregistrait 574 cas positifs et 33 cas de décès(9).

Nous nous sommes donc proposé de mener une étude rétrospective dans le but d'analyser les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et virologiques des patients atteints de la COVID-19 au tout début de la pandémie, admis à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V (HMIMV) lors de la première vague de l'épidémie.

PARTIE I : RAPPELS GENERAUX

I. Rappels historiques

Le genre « *Coronavirus* » a été créé en 1967 et a regroupé à partir de critères essentiellement morphologiques des virus animaux connus depuis les années 1930. Les coronavirus humains sont au nombre de sept : **HCoV-229E** et **HCoV-OC43** décrits dans les années **1960** ; le **SARS-CoV** identifié en **2003** lors de l'épidémie du SRAS ; **HCoVNL63** décrit en **2004** aux Pays-Bas, HCoV-HKU1 découvert en 2005 à Hong-Kong, Le **MERS-COV** découvert en **2012** au Moyen Orient, et enfin le **SARS-CoV-2** en **2019** (10).

1) Les Coronavirus humain-229E, -OC43, -NL63 et -HKU1

La souche prototypique **HCoV-229E** (nommée d'après un spécimen d'étudiant codé 229E) a été isolée en utilisant une culture tissulaire standard. Isolé pour la première fois en **1966**, le HCoV-229E proviendrait des chauves-souris africaines et adopterait les camélidés comme hôtes intermédiaires. L'infection par le HCoV-229E est associée aux symptômes du rhume chez les adultes en bonne santé. Mais les jeunes enfants et les personnes âgées sont vulnérables aux infections des voies respiratoires inférieures. Il évolue sous forme épidémique pendant l'hiver dans les pays tempérés.

Le **HCoV-OC43 (Organ Culture 43)** a été isolé pour la première fois en **1967**. Les patients infectés par le HCoV-OC43 présentent en plus des mêmes symptômes que lors d'une infection par le HCoV-229E, un mal de gorge plus fréquent. Depuis le premier isolement de HCoV-OC43, sept génotypes (A-G) ont été identifiés par analyse phylogénétique. Le HCoV-OC43 est également transmis principalement pendant l'hiver dans les climats tempérés.

Le **HCoV-NL63 (NetherLand 63)** a été isolé à partir de l'aspiration bronchique d'un nourrisson de 7 mois atteint de bronchiolite en **2004** au **Pays Bas**. L'épidémie de HCoV-NL63 montre un pic pendant le printemps et l'été, ce qui indique que la saisonnalité de l'infection par le HCoV-NL63 peut ne pas être limitée à l'hiver en particulier dans les régions tropicales subtropicales.

Le HCoV-HKU1 (Hong Kong University 1) a été isolé chez un patient de **Hong Kong** atteint de pneumonie en **2005**. Comme les trois autres HCoV responsables de maladies bénignes, le HCoV-HKU1 est distribué dans le monde entier. L'infection par le HCoV-HKU1 est relativement fréquente chez les adultes. Il est responsable de symptômes tels qu'une rhinorrhée, une toux, une congestion nasale, une fièvre, des expectorations, des maux de gorge, des frissons, un écoulement nasal et une hypertrophie des amygdales.(11)

2) Pandémie de 2002 : Le SARS-CoV

Dans la province chinoise de Guangdong, au cours de l'hiver 2002-2003, une forme inhabituelle et souvent mortelle de pneumonie est apparue, une maladie appelée par la suite syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) (12). Cette maladie s'est propagée à Hong Kong à la fin du mois de février et, en quelques jours, les voyages aériens internationaux ont propagé le virus sur une vaste zone, provoquant des épidémies au Vietnam, à Singapour, au Canada et ailleurs. En juillet 2003, à la fin de cette épidémie, 8422 cas avaient été enregistrés, dont 916 (10,8 %) mortels, dans 29 pays sur 6 continents. Le point d'émergence initial du réservoir animal du SARS-CoV était les marchés d'animaux vivants de Guangdong. On a constaté que les petits mammifères, tels que les chats civettes, vendus sur ces marchés abritaient des virus étroitement apparentés au SARS-CoV et que la transmission initiale inter-espèces à l'homme provenait probablement de ces marchés [4, 5].

3) L'épidémie de 2012: le MERS-CoV

Le MERS-CoV a été isolé pour la première fois en 2012 à partir du poumon d'un patient de 60 ans qui a développé une pneumonie aiguë et une insuffisance rénale en Arabie saoudite. Un MERS-CoV vivant identique au virus trouvé chez l'homme a été isolé à partir d'écouvillons nasaux de chameaux dromadaires, ce qui indique en outre que les chameaux servent d'hôte réservoir du MERS-CoV. A la fin du mois de Mai 2021, plus de 2 574 cas

confirmés en laboratoire ont été signalés, avec 886 décès avec un taux de 34,4%, faisant du MERS-CoV l'un des virus les plus dévastateurs connus chez l'homme (15).

4) La pandémie de 2019 : Le SARS-CoV-2

En fin 2019, une nouvelle forme de pneumonie sévère d'étiologie inconnue a été déclarée à Wuhan dans la province du Hubei en Chine. Les enquêtes ont révélé que son point de départ était le marché de fruits de mer de Wuhan. Plus tard, le 7 Janvier 2020, l'agent causal fut identifié comme un coronavirus et son génome fut séquencé le 12 Janvier 2020 (16). Dénommé nCov-19 (novel Coronavirus 2019) puis SARS-CoV-2 à cause de la similarité des symptômes causés avec celle du SARS-CoV de 2002, la nouvelle maladie à coronavirus COVID-19 (Coronavirus disease 2019) s'est rapidement répandue dans l'Asie puis l'Europe et dans le reste du monde. A cause de sa forte contagiosité et sa létalité, elle fut déclarée par l'OMS comme pandémie le 11 Mars 2020 (17).

Avec plus de 178 Millions de cas positifs et 3,86 millions de décès à ce jour au niveau mondial et (21 Juin 2021), le nouveau coronavirus semble avoir interrompu le cours normal de la vie et handicapé l'économie mondiale. Les figures ci-dessous montrent la chronologie de l'évolution dans le monde et un aperçu de l'évolution des cas au Maroc.

CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES, CLINIQUES ET VIROLOGIQUES DES PATIENTS ATTEINTS DE LA COVID-19 A L'HMIMV.

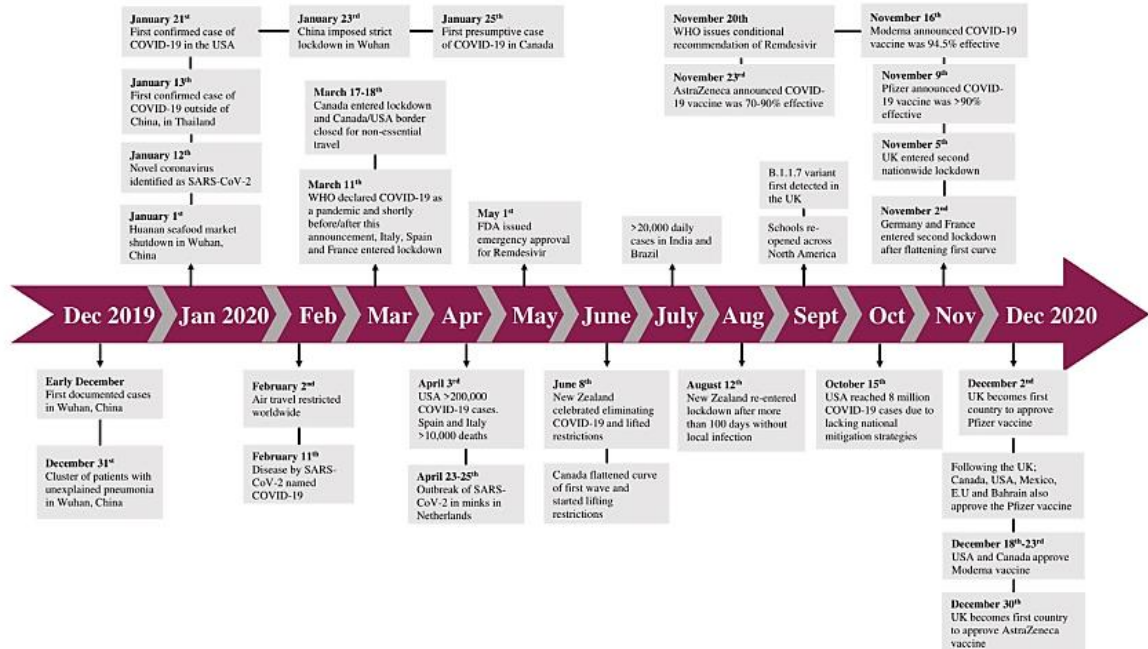


Figure 1: Chronologie de l'évolution de la pandémie du SARS-CoV-2 dans le monde (Décembre 2019 à Décembre 2020) (18)

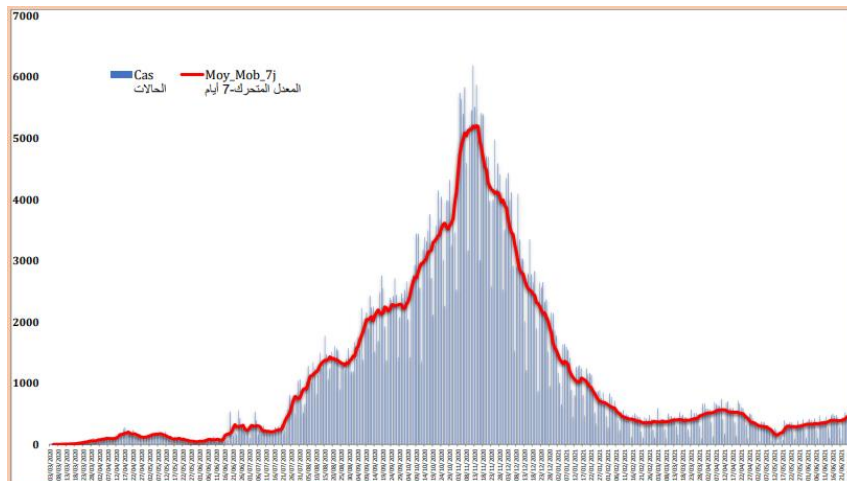


Figure 2: Evolution des cas de COVID-19 au MAROC (jusqu'à Juin 2021) (19)

II. Caractéristiques virologiques du SARS-CoV-2

1) Classification et phylogénie

Le virus SARS-CoV-2 appartient, comme le Virus du SRAS, à l'espèce SARSr-CoV (severe acute respiratory syndrom-related coronavirus), dans le genre *Betacoronavirus* et la famille *Coronaviridae*, de l'ordre des *Nidovirales* (20).

L'analyse phylogénétique de l'ensemble du génome montre que le SARS-CoV-2 est regroupé avec le SARS-CoV et les coronavirus liés au SRS (SARSr-CoV) trouvés chez les chauves-souris, ce qui le place dans le sous-genre *Sarbecovirus* du genre *Betacoronavirus*. Bien que phylogénétiquement apparenté, le SARS-CoV-2 est distinct de tous les autres coronavirus des chauves-souris et des pangolins (21).

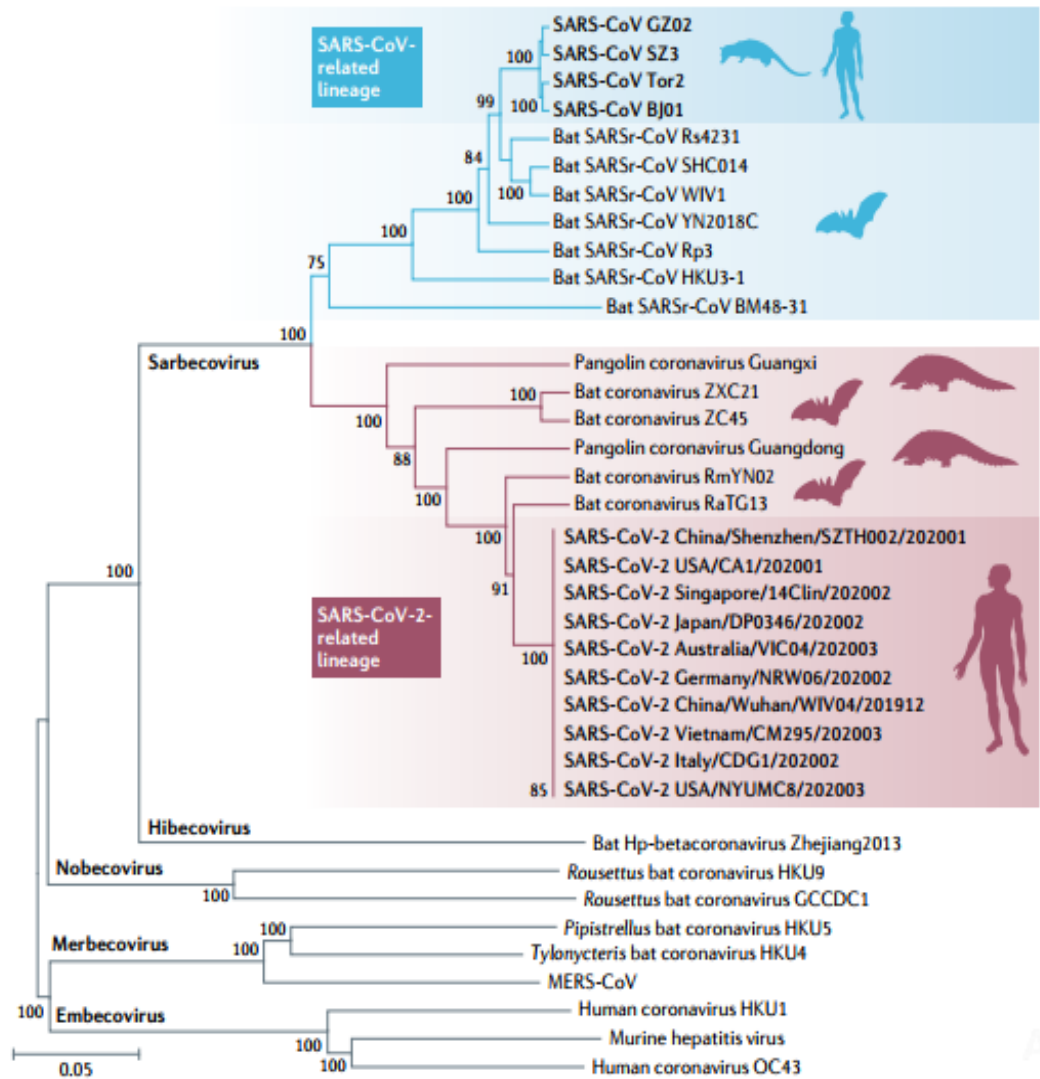


Figure 3: Classification et phylogénie des Coronavirus(21)

2) Structure

C'est un virus enveloppé de diamètre compris entre 60 et 140 nm. La morphologie des virions est typique de celle des coronavirus, notamment par son halo de protubérances constituées de polymères de protéines virales « *spike* » (spicule), qui leur confère leur nom de « virus à couronne »(22)

Morphologiquement, on distingue chez le SARS-CoV-2 (23,24):

- la protéine S : c'est une glycoprotéine membranaire de type 1 avec différents domaines fonctionnels au niveau N-terminal (S1) et C-terminal (S2).
 - La sous-unité S1 est périphérique et est associée à des fonctions de liaison aux récepteurs
 - La sous-unité S2 est une protéine transmembranaire permettant la fusion des membranes virales et cellulaires.
- D'une manière générale, la glycoprotéine S facilite la liaison du virus aux cellules sensibles, provoque la fusion des cellules et l'apparition de la maladie et induit la production des anticorps neutralisants.
- la protéine de la nucléocapside N : elle a pour fonction principale de se fixer au génome ARN du coronavirus. Elle joue aussi un rôle dans la réplication de l'ARN viral et dans la réponse cellulaire de l'hôte à l'infection virale.
 - la protéine de membrane ou matrice M : dirige la plupart des interactions protéine-protéine nécessaires à l'assemblage des virus après sa liaison à la nucléocapside.
 - la protéine d'enveloppe E : contribue à l'assemblage et à la libération du virion hors de la cellule infectée, en suivant la voie de sécrétion (appareil de Golgi, puis vésicules sécrétoires).
 - l'hémagglutinine estérase HE présente chez les *Betacoronavirus* de clade A (25).

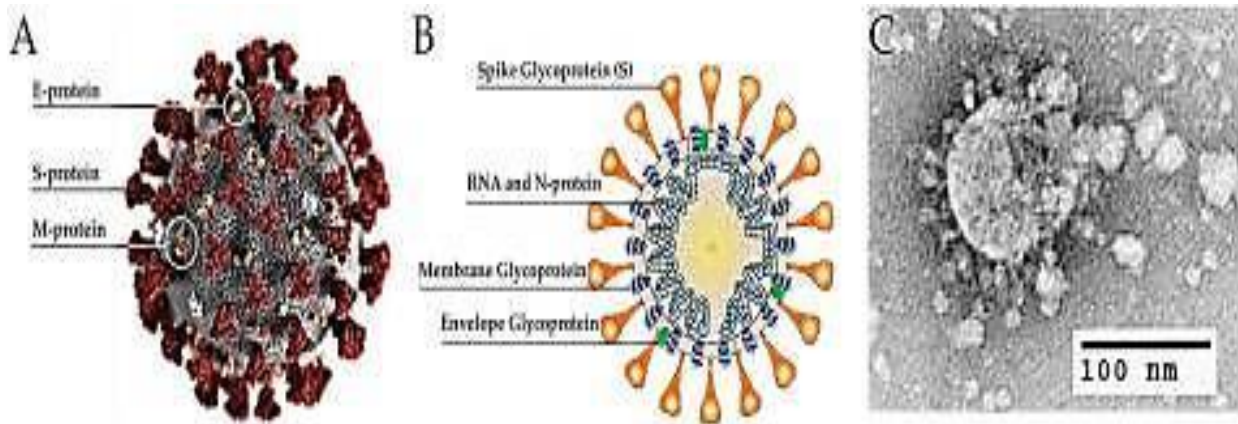


Figure 4: Structure du SARS-COV 2(26)

3) Génome

Le génome du SARS-CoV-2 est représenté par un ARN Simple brin de polarité positive d'une taille variant de 29,8 kb à 29,9 kb (27).

Il est organisé en 14 cadres ouverts de lecture (ORF= Open Reading Frame) codant pour 27 protéines (fig. 5).

- ✓ Les deux premiers tiers du génome en 5' correspondent aux **ORF1a** et **ORF1b** qui codent pour 16 protéines non-structurelles différentes (nsp1-nsp16) impliquées dans le complexe « réplisome ».
- ✓ Le dernier tiers du génome abrite plusieurs cadres de lecture ouverts qui codent pour 4 protéines structurelles (spicule, S ; enveloppe, E ; membrane, M ; nucléocapside, N) et 10 protéines accessoires (**ORF3a, ORF3b, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8a, ORF8b, ORF9b, ORF9c, ORF10**).
- ✓ À chaque extrémité du génome se trouvent des régions non codantes (UTR) connues sous le nom de **5'UTR** et **3'UTR**. Ces UTR sont relativement courtes, d'environ 230 bases, mais ont des fonctions régulatrices importantes (28)(29).

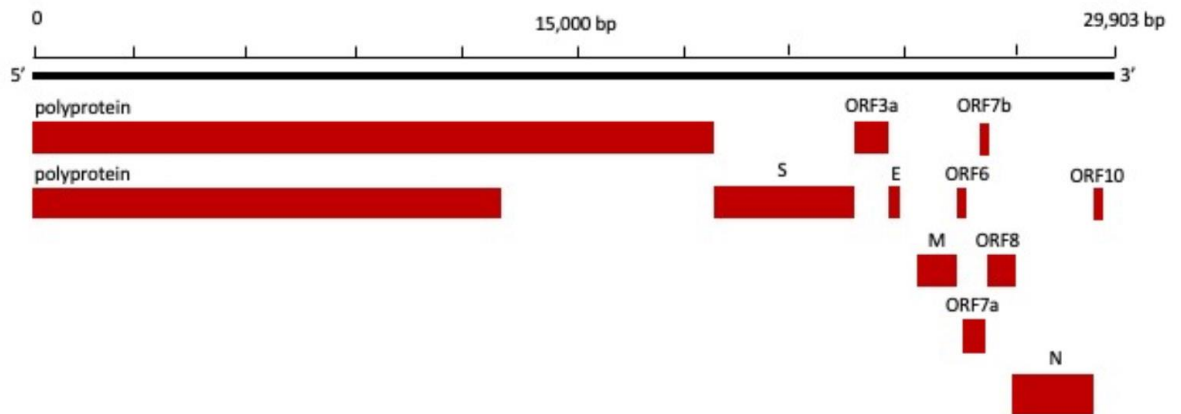


Figure 5 : Structure du génome du SARS-CoV-2(14)

4) Cycle viral

Le cycle de réplication du SARS-CoV-2 se traduit par l'entrée du virus à l'intérieur de la cellule, le détournement de la machinerie cellulaire par le virus, la réplication du virus par la cellule et/ou la réalisation de tâches bien précises par la cellule répondant aux besoins du virus.

La protéine S du le SARS-CoV-2 est le principal acteur dans l'infection des cellules. La protéine S est constituée de deux sous-unités fonctionnelles : la sous-unité S1 permet la liaison du virus au récepteur de la cellule hôte et la sous-unité S2 assure la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire. La sous-unité S1 contient deux domaines (le RBD et le NTD) qui chacun reconnaît des récepteurs cellulaires différents. Le principal domaine utilisé jusqu'à présent par le SARS-CoV-2 est le RBD. Le RBD permet la liaison au récepteur ACE2 (30)(31)(32).

Une fois que la sous-unité S1 est liée à un récepteur (le plus souvent ACE2), deux clivages protéolytiques successifs sont nécessaires. Le premier clivage coupe la protéine S en S1 et S2. Le second appelé S2' libère l'extrémité du peptide de fusion qui comme son nom l'indique amorce la fusion du virion avec la cellule. Une des originalités de la protéine S du

SARS-CoV-2 est qu'elle intègre une séquence d'activation au site de clivage dit «S1 / S2 », similaire aux séquences observées dans les virus de la grippe. Ainsi, à l'instar du virus de la grippe, la protéine S du SARS-CoV-2 peut être clivée à l'aide d'une protéase qui se trouve en abondance dans le plasma : la furine. Les scientifiques suggèrent que cette capacité à pouvoir cliver S1 et S2 par la furine est la raison pour laquelle le SARS-CoV-2 est devenu une épidémie.

Une fois dans la cellule, après décapsidation, la protéine N bloque la production d'interféron. Dans le même temps, l'ARN viral est traduit par les ribosomes de la cellule hôte, avec synthèse de deux grands polypeptides 1a et 1b à partir de l'ORF1a et de l'ORF1b. Les pp1a et pp1b vont subir un clivage par des protéinases virales en de nombreuses protéines dont certaines vont s'assembler pour former le Complexe Réplicase-Transcriptase (CRT) indispensable à la réplication en série du génome viral. Ce complexe produit une série d'ARNm sous-génomiques par transcription discontinue et finalement traduits en protéines virales correspondantes. Les protéines virales et l'ARN génomique sont ensuite assemblés en virions dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, puis transportés par des vésicules et libérés hors de la cellule (33).

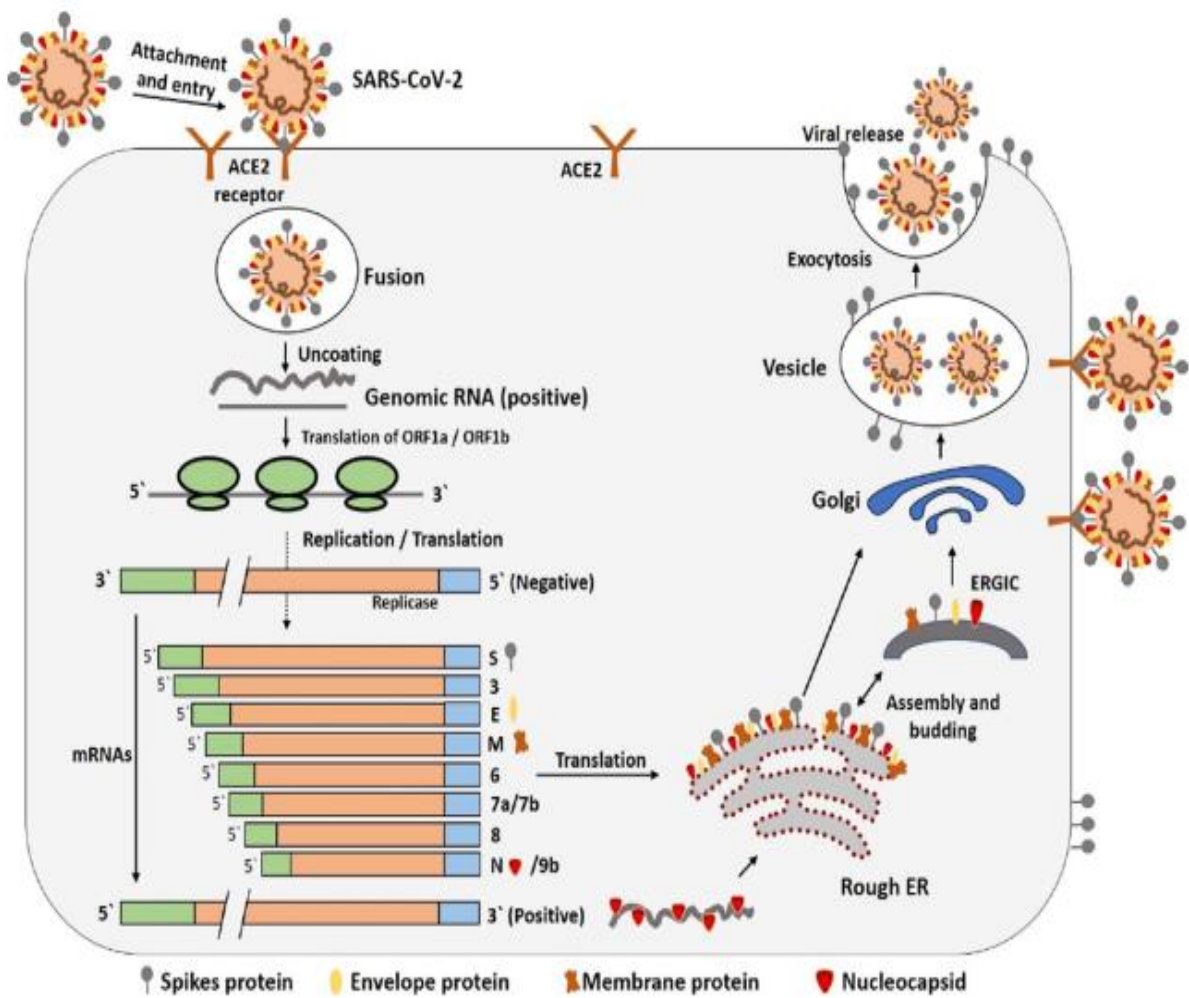


Figure 6: Cycle de répliation viral du SARS-COV 2(23)

5) Propriétés physico-chimiques

Comme la plupart des virus nus, le SARS-CoV-2 est un virus fragile, sensible à différents agents désinfectants chimiques et physiques. Le tableau 1 résume l'ensemble des agents testés sur le SARS-CoV-2.

Tableau 1: Agents désinfectants actifs contre le SARS-CoV-2

Agent désinfectant	Concentration	Durée d'action	Effet (réduction de la charge virale)	Reference
L'éthanol	78 %, 80 %, 85 % et 95 %	30 secondes	4,3 et 5,5 log10	(34)
Formaldéhyde	0,7% à 1%	2 minutes	3 log10	(34)
Povidone iodée	0,23 % à 7,5 %	15 secondes	de 4,4 à 5 log10	(35)
2-propanol	70 %, 75 % et 100 %	30 secondes	3,3 à 4,0 log10	(34)
peroxyde d'hydrogène	0,5 %	1 minute	4log 10	(34,36)
Glutaraldéhyde	0,5 %	2 minutes	4log 10	(34)
Hypochlorite de sodium	0,5 % et 1%		3log 10	(37)
Chaleur	60°C	30 minutes	4log 10	(38)
Chaleur	80°C	1 minute	-	(38)

III. Caractéristiques épidémiologiques de la pandémie du COVID-19

1) Réservoir du virus

La découverte de divers coronavirus de chauves-souris étroitement liés au SARS-CoV-2 suggère que les chauves-souris sont des réservoirs possibles du SARS-CoV-2 (39). Néanmoins, sur la base des résultats actuels, la divergence entre le SARS-CoV-2 et les coronavirus de chauve-souris apparentés représente probablement plus de 20 ans d'évolution séquentielle, ce qui suggère que ces coronavirus de chauve-souris peuvent être considérés uniquement comme le précurseur évolutif probable du SARS-CoV-2, mais pas comme le progéniteur direct du SARS-CoV-2 (40).

Les pangolins sont un autre hôte sauvage probablement lié au SARS-CoV-2. L'apparition répétée d'infections à coronavirus liées au SARS-CoV-2 chez des pangolins provenant de différents événements de contrebande suggère que ces animaux sont des hôtes possibles des virus. Ces anomalies suggèrent que les pangolins ne sont probablement pas le réservoir de ces coronavirus, mais qu'ils ont plus vraisemblablement acquis les virus après avoir été contaminés par les hôtes naturels. Toutefois, aucune preuve n'a montré que les pangolins étaient directement impliqués dans l'émergence du SARS-CoV-2 (21)

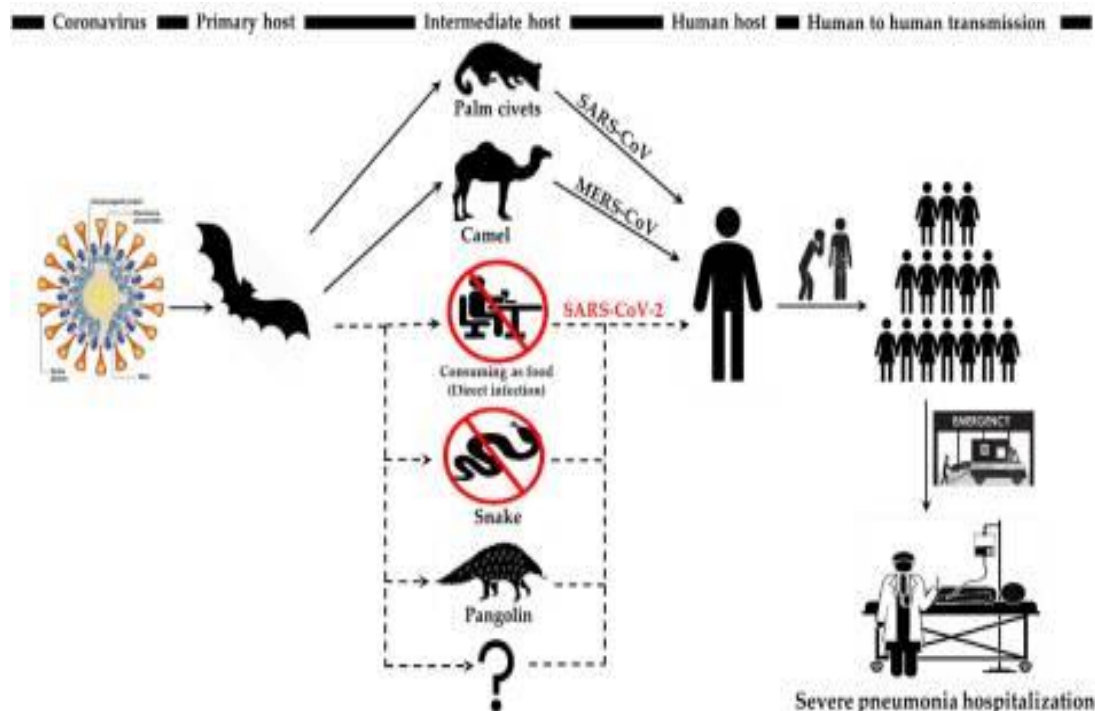


Figure 7: Réservoir du virus(26)

2) Modes de transmission

La transmission se fait essentiellement par (fig. 8) :

- voie aérienne à travers les gouttelettes de salive ou des sécrétions des voies aériennes supérieures émises lors de la toux, la parole, l'éternuement par un sujet infecté. L'on se contamine lorsque ces gouttelettes porteuses du virus entrent en contact avec la muqueuse de la bouche, du nez et des yeux (41)(42).

- Contact avec les surfaces souillées par des gouttelettes dans l'environnement du sujet infecté (43).
- Aérosolisation dans l'air des fines gouttelettes (44).

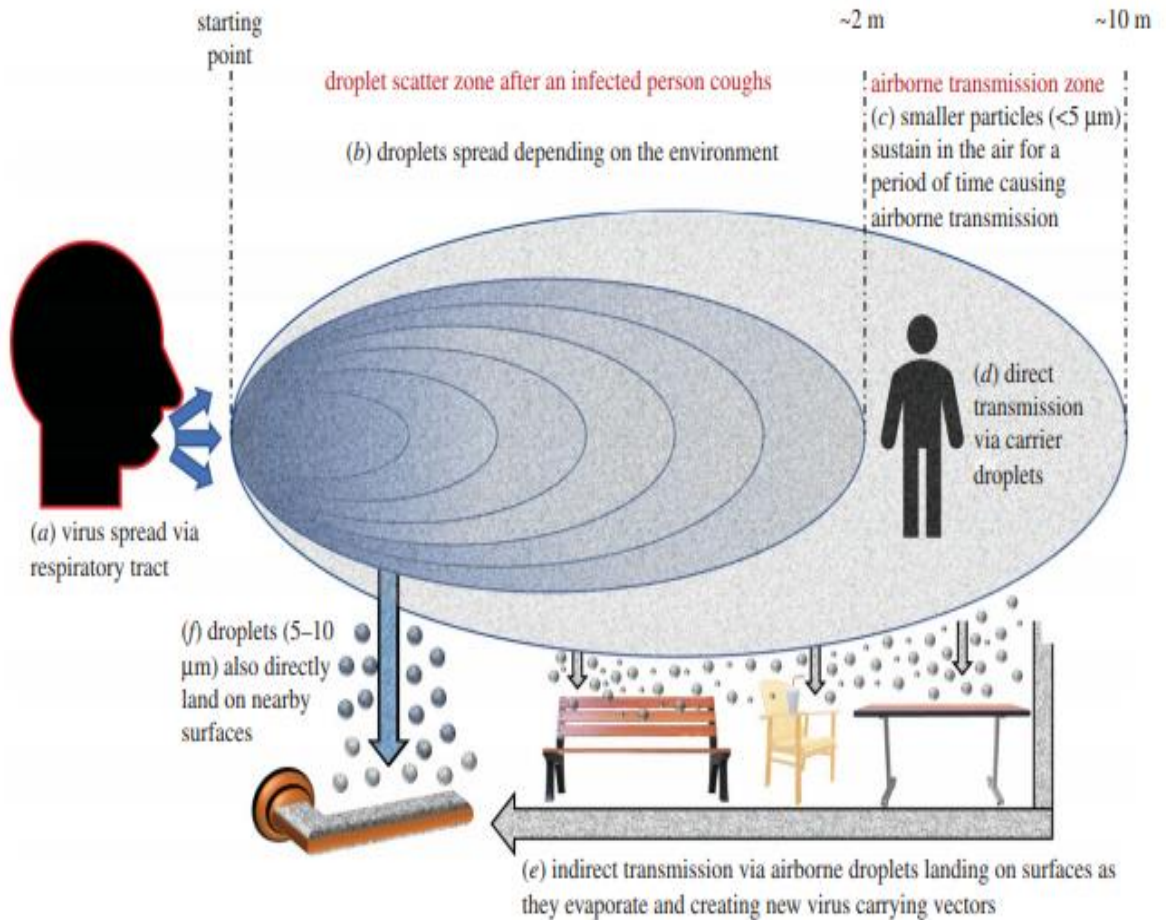


Figure 8: Transmission du SARS-CoV-2(44)

3) Facteurs de risque et réceptivité

Divers facteurs, tels que les déterminants socio-économiques, les facteurs intrinsèques et les conditions de santé préexistantes et les niveaux d'exposition jouent un rôle important dans la détermination du risque de contracter le SARS-CoV-2.(45,46).

- ❖ Les déterminants socio-économiques : personnes vivant en promiscuité, la fréquentation de lieux où la distanciation physique n'est pas possible ou respectée
- ❖ Les niveaux d'exposition : surtout chez les personnels soignants ou personnels en maison d'accueil
- ❖ Les facteurs intrinsèques et les conditions de santé préexistantes : l'âge avancé, la présence de maladie respiratoire, l'immunodépression

Les facteurs de risque associés à une mauvaise évolution de la maladie sont les suivants :

- Le tabagisme,
- L'obésité,
- Les diabètes,
- La préexistence de maladies cardiovasculaires : l'HTA, l'athérosclérose, l'infarctus du myocarde, un AVC
- La préexistence de maladies respiratoires : BPCO, l'asthme
- L'âge > 65 ans
- L'immunodépression

IV. Physiopathologie

En se fixant sur les cellules épithéliales du tractus respiratoire, le SARS-CoV-2 commence à se répliquer et à migrer vers les voies respiratoires inférieures puis pénètre dans les cellules épithéliales alvéolaires des poumons grâce à la liaison avec le récepteur à l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE 2). La réplication rapide du SARS-CoV-2 dans les poumons peut déclencher une forte réponse immunitaire. Les cellules immunitaires activées sécrètent des cytokines inflammatoires dans les cellules endothéliales des artères pulmonaires. L'orage cytokinique provoque le syndrome de détresse respiratoire aiguë et l'insuffisance respiratoire.

L'atteinte multi-viscérale peut être causée directement par le virus SARS-CoV-2 ou résulter d'une réponse immunitaire accrue. Puisque l'ACE2 est largement exprimés à la surface des membranes cellulaires au niveau du cœur, des reins, des intestins et des artères (18,47,48).

V. Manifestations cliniques de la COVID-19

1) Durée d'incubation et de contagion

La période d'incubation moyenne du SARS-CoV-2 est de 5 à 6 jours mais peut atteindre 24 jours, ce qui rend le dépistage de l'infection plutôt difficile (18). La période de contagiosité est estimée à 2 à 4 jours avant l'apparition des symptômes et dure environ 7 à 10 jours après (49–51).

2) Formes asymptomatiques

L'incidence des cas asymptomatiques de SARS-CoV-2 varie de 1,6 % à 51,7 % et ces personnes ne présentent pas de symptômes ou de signes cliniques typiques mais peuvent présenter des anomalies apparentes à la tomodensitométrie (TDM) pulmonaire (18,52).

3) Formes symptomatiques

Un large éventail de manifestations cliniques est observé chez les patients atteints de SARS-CoV-2, allant d'une maladie légère/modérée à une maladie grave, rapidement progressive et fulminante.

- Les symptômes non spécifiques (les plus courants et similaires à ceux d'une grippe) : la fièvre, la toux, la myalgie ou la fatigue
- Les symptômes atypiques (moins fréquents) : les expectorations, les maux de tête, l'hémoptysie, les vomissements et la diarrhée, une perte de l'odorat (hyposmie ou anosmie) ou du goût (hypoagueusie ou agueusie), qui sont désormais considérés comme des signes d'alerte précoce et des indications d'auto-isolément (53,54).

Les signes radiologiques caractéristiques de la COVID-19 sont les suivants : des opacités en verre dépoli, non systématisées, multifocales, bilatérales et asymétriques, de localisation sous pleurale à prédominance basale et postérieure. L'évolution des images en verre dépoli se fait vers un aspect de *crazy paving* : apparition secondaire de réticulations intralobulaires de condensations linéaires. Dans les formes graves, la proportion de condensation pulmonaire est plus élevée (55).

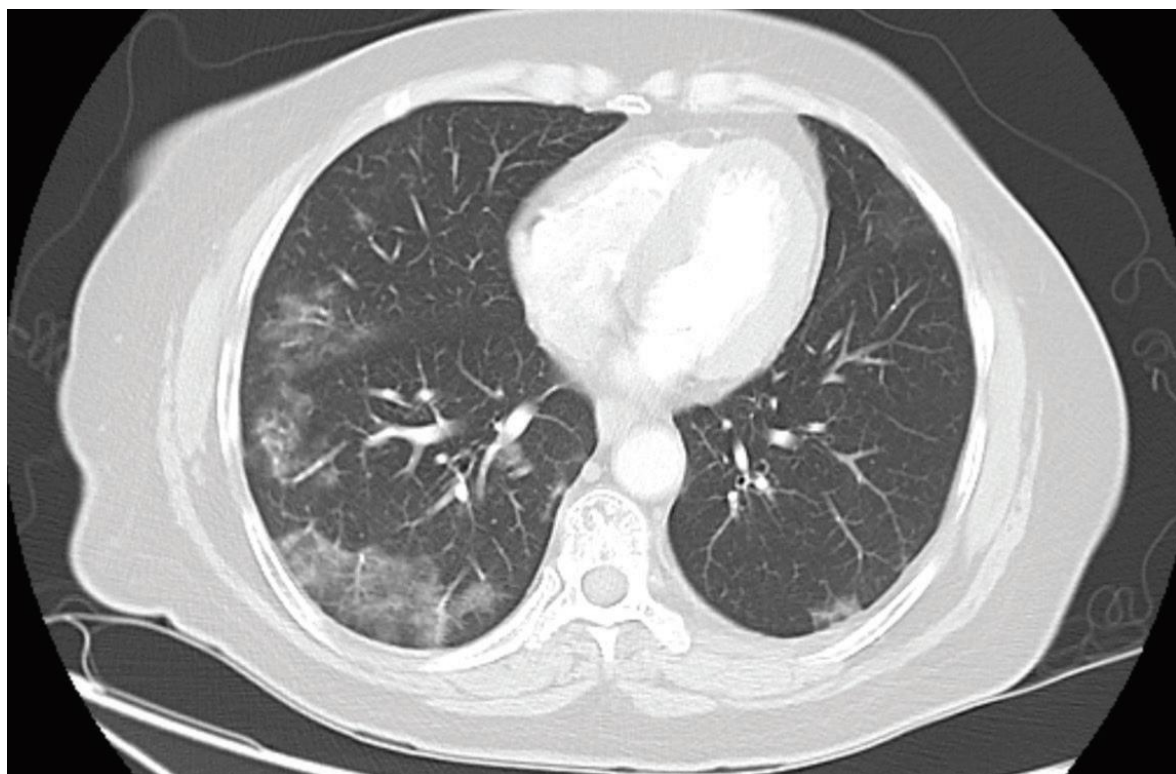


Figure 9: Condensations en verre dépoli basales bilatérales, sous-pleurales, caractéristiques de la maladie(55)

Biologiquement, la plupart des patients présentent des taux élevés de la CRP, une élévation des transaminases, de la ferritine, de la protéine C-réactive (CRP), de la créatine kinase, des D-dimères et aussi une lymphopénie, une thrombopénie et une leucopénie (2,53,56).

4) Les formes graves et modes d'évolution

Il existe un large spectre de gravité et de modes d'évolution. Environ 6,5 % à 31,7 % des patients hospitalisés sont admis en soins intensifs et environ 29 % d'entre eux développent détresse respiratoire aiguë(4,45,54) .

Certains patients (de 2 % à 20 %) présentent une mauvaise évolution de la maladie se traduisant par la progression du dysfonctionnement de plusieurs organes avec nécessité une ventilation mécanique invasive et la mortalité (45,57).

En outre, d'autres développent des formes longues de la maladie avec persistance d'au moins un symptôme du COVID-19 jusqu'à un mois après leur sortie de l'hôpital. Les symptômes les plus fréquents chez ces patients étaient la fatigue, la dyspnée, les douleurs articulaires et les douleurs thoraciques (58).

Des lésions pulmonaires persistantes ont été observées chez des patients guéris du COVID-19.

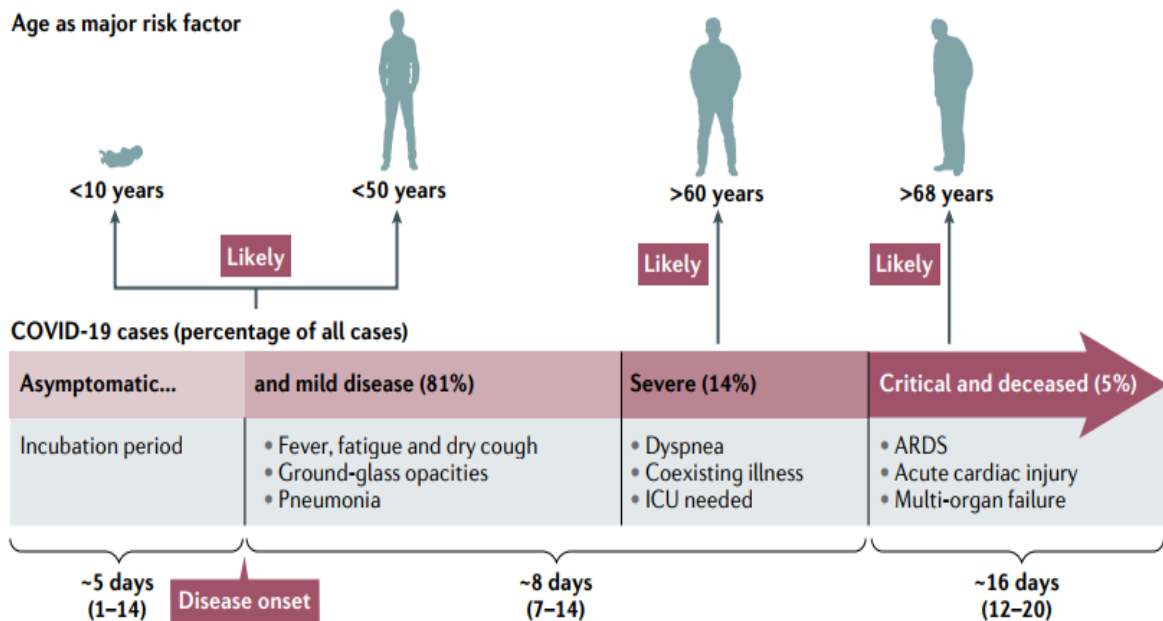


Figure 10: Aspects cliniques de la COVID-19(21).

VI. Méthodes du diagnostic virologique

Le diagnostic rapide et précis du SARS-CoV-2 est une étape cruciale dans la gestion de la pandémie. Les tests de diagnostic consistent soit à la détection directe de l'ARN viral ou à la recherche des antigènes ou anticorps viraux par des méthodes immunologiques.

1) Diagnostic direct moléculaire

a) Mesures de protection :

b) Les types de prélèvements

Le CDC recommande la recherche des acides nucléiques sur des échantillons des voies respiratoires supérieures collectés par écouvillons ; et dans les cas graves lorsque cela est possible, des prélèvements des voies respiratoires inférieures. Voir tableau ci-dessous.

Tableau 2: Types de prélèvements respiratoires pour le diagnostic moléculaire

Prélèvements des voies supérieures (par écouvillonnage)	Prélèvements des voies inférieures
✚ Les échantillons nasopharyngés	✚ Les expectorations
✚ Les échantillons oropharyngés	✚ L'aspiration trachéale
✚ Les échantillons nasaux (auto-écouvillonnage)	✚ Le liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA)

c) Préparation des échantillons

La préparation des échantillons pour le diagnostic moléculaire consiste à transformer les échantillons prélevés en un échantillon compatible à la technique de diagnostic. Les échantillons doivent être traités pour isoler l'ARN viral. Les kits d'isolement de l'ARN doivent être compatibles avec aux protocoles de détection du génome du SARS-CoV-2.

L'extraction et la purification du matériel génétique se fait en différentes étapes:

- La lyse cellulaire,
- La dénaturation de l'ARNase et des protéines,
- La purification de l'ARN viral par différentes techniques : la purification par billes magnétiques, isolement sur micro-colonnes ou par l'usage des solvants organiques. Ces méthodes sont résumées dans le tableau 3.

**Tableau 3: Tableau comparatif des techniques d'extraction de l'ARN viral
du SARS-CoV-2 (59).**

Méthode	Principe de purification	Avantages	Inconvénients
La purification par billes magnétiques	Des billes magnétiques pré-fonctionnalisées capturent l'ARN viral. Un champ magnétique externe maintient les billes en place pendant les étapes de lavage et d'éluion	Grande efficacité pour extraire de grandes concentrations d'acides nucléiques	Risque de contamination des billes magnétiques dans la solution d'ARN viral isolée.
Isolement sur micro-colonnes	Les colonnes contenant des membranes en silice ou en polymères chargés piègent l'ARN viral. La force centrifuge ou le vide est appliqué pour les étapes de lavage et de collecte.	Facile à mettre en œuvre ; cependant, elle nécessite une centrifugeuse ou un vide.	Les membranes peuvent être colmatées en fonction du spécimen utilisé
Méthode organique	Une solution de phénol ou de chloroforme est utilisée ainsi que la force centrifuge pour séparer l'ARN viral en milieu aqueux. Une précipitation à l'alcool et une réhydratation sont mises en œuvre pour isoler l'ARN viral.	Méthode de référence pour isoler l'ARN viral.	Méthode plus fastidieuse et risque chimique avec les produits utilisés

d) Les techniques d'analyses moléculaires

❖ *Les tests d'amplification en chaîne par polymérase avec transcription inverse (RT-PCR)*

➤ Les gènes cibles

Les cibles de la détection du SARS-CoV-2 comprennent les gènes codant pour les protéines N, E et S et le gène RdRP situé dans l'Orflab (60,61) (figure 11). Le choix des

cibles affecte la spécificité analytique des tests RT-PCR. Le gène E est hautement conservé parmi tous les *Sarbecovirus* et le gène N peut avoir une réaction croisée avec d'autres coronavirus. Le gène RdRP peut être utilisé pour différencier le SARS-CoV-2 du virus SARS-CoV. Le gène S est également utile pour différencier le SARS-CoV-2 car il est hautement divergent des autres coronavirus. Le tableau en annexe 1 fait une comparaison des différents tests moléculaires approuvés par la FDA-EUA.

➤ Le principe

La figure 12 illustre les processus typiques de RT-PCR pour le SARS-CoV-2. La réaction de retro-transcription convertit l'ARN viral en ADN complémentaire (ADNc). La polymérisation en chaîne (PCR) amplifie l'ADNc de manière exponentielle et l'ADN amplifié est détecté en temps réel à l'aide de sondes fluorescentes. Lorsqu'un nouveau brin d'ADN est synthétisé, une sonde rapporteuse hybridée (par ex, la sonde TaqMan) est clivée par l'activité exonucléase 5' de la polymérase et le quencher est retiré du fluorophore, ce qui entraîne la génération de fluorescence. Ainsi, l'intensité de la fluorescence reflète l'amplification en temps réel des séquences d'ADN et est utilisée pour la détection quantitative de l'ADN cible.

Une autre stratégie pour produire de la fluorescence consiste à l'utilisation d'agents intercalants se liant l'ADN double brin (ADNdb) (par exemple, SYBR Green).

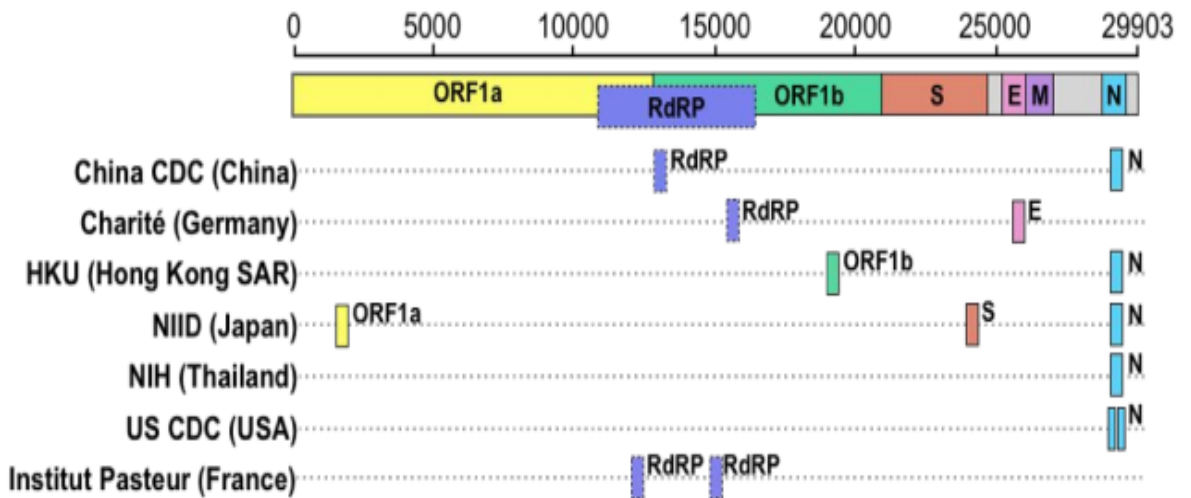


Figure 11: Organisation du génome du SARS-CoV-2 et positions relatives des cibles génétiques détectées à l'aide de réactions en chaîne par polymérase à transcription inverse (RT-PCR)(62)

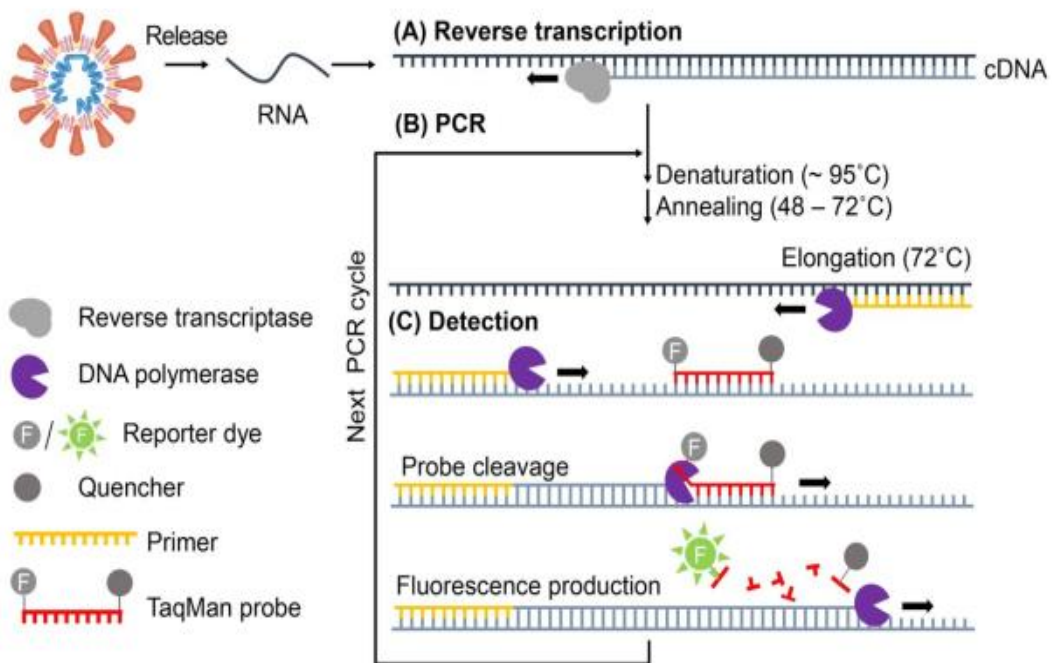


Figure 12: Le principe de la RT-PCR(62)

Chez la plupart des individus présentant une infection symptomatique à COVID-19, l'ARN viral dans l'écouvillon nasopharyngé, mesuré par le seuil de cycle (Ct) devient détectable dès le premier jour des symptômes et atteint un pic dans la première semaine de l'apparition des symptômes (63).

Le Ct est le nombre de cycles de réplication nécessaires pour produire un signal fluorescent, des valeurs Ct plus faibles représentant des charges d'ARN viral plus élevées (Fig. 13). Une valeur de Ct inférieure à 40 est cliniquement signalée comme étant PCR positive. Cette positivité commence à diminuer à partir de la troisième semaine et devient ensuite indétectable. Un résultat PCR " positif " reflète uniquement la détection de l'ARN viral et n'indique pas nécessairement la présence d'un virus viable (50). A cet effet la Société Française de Microbiologie a mis à la disposition des biologistes des recommandations d'aide à l'interprétation des résultats de la PCR en définissant un seuil de positivité avec « excrétion virale significative » et un seuil avec « excrétion virale modérée voire faible » (64). (Voir Logigramme en annexe 2)

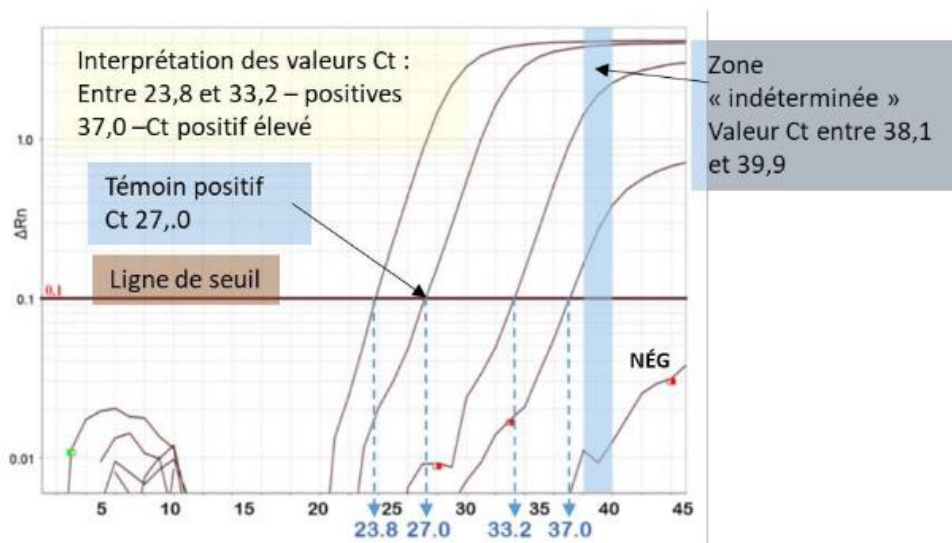


Figure 13: Exemple de courbe d'amplification par PCR en temps réel (en log)(65)

❖ *La technique RT-LAMP (RT Loop Mediated Isothermal Amplification)*

La LAMP est une technique d'amplification isotherme. Elle fonctionne généralement à 60-65 °C pour obtenir une amplification exponentielle des cibles d'acide nucléique sans nécessiter de cycles de température [49]. Cette technique utilise trois paires d'amorces : deux amorces internes, deux amorces externes et deux amorces en boucle.

Les amorces internes et externes se lient à la cible et leur extension produit une structure en haltère composée de deux boucles à tige à chaque extrémité. Les amorces internes s'hybrident à la région en boucle de l'altère pour initier l'amplification de l'ADN. L'ADN amplifié nouvellement formé est à double brin. L'activité intrinsèque de déplacement des brins de la polymérase permet de multiples cycles d'amplification en séparant l'ADNdb en ADNsb.

Plusieurs tests RT-LAMP ont été mis au point pour cibler différentes régions génétiques du SARS-CoV-2, avec des lectures de fluorescence ou colorimétriques (67)(68).

La fluorescence de la Calcéine est initialement inhibée lorsque la Calcéine est liée au manganèse. Les pyrophosphates générés par les réactions d'amplification de l'ADN séquestrent le manganèse et libèrent la calcéine. La Calcéine libre peut se lier aux ions magnésium, ce qui augmente l'intensité de son émission de fluorescence.

Les lectures colorimétriques sont réalisées à l'aide d'indicateurs de pH. Pendant la polymérisation de l'ADN, chaque ajout d'un dNTP libère un ion hydrogène qui diminue le pH de la solution. La diminution du pH correspond à l'étendue de la polymérisation de l'ADN. Un indicateur de pH peut être utilisé, le rouge de phénol, qui passe du rose (pH 8,8) au jaune (pH 6,5) pour indiquer l'apparition de l'amplification (68).

2) Méthodes de diagnostic direct antigénique

Les tests antigéniques détectent l'une des protéines du virus SARS-CoV-2 (généralement la protéine de nucléocapside NP) à partir d'un prélèvement nasopharyngé ou nasal et permettraient, tout comme la détection du génome viral par amplification génique, de poser un diagnostic d'infection par le SARS-CoV-2 en phase précoce. Il est à noter que

l'efficacité de la détection des antigènes viraux semble corrélée à la charge virale. Comparativement au test de référence (RT-PCR sur prélèvement nasopharyngé), l'objectif des tests antigéniques est d'accélérer et de faciliter le dépistage et de rendre rapidement le résultat afin notamment de réduire les risques de transmission virale.

En effet, les tests antigéniques réalisés sur prélèvements nasopharyngés voire nasaux sont rapides (15 à 30 minutes), facile d'utilisation et d'interprétation ; majoritairement présents sous forme de tests unitaires (c'est-à-dire sous forme de Test Diagnostic Rapide (TDR))réalisable par les laboratoires de biologie médicale et par d'autres opérateurs (69). Ces tests ont une bonne valeur prédictive positive. Si un test antigénique positif signe une infection, l'inverse n'est pas valable. Le test de référence pour le diagnostic positif de la COVID-19 reste la RT-PCR.

3) Diagnostic sérologique

Les prélèvements sont de types sanguins : sang total prélevé sur tube avec ou sans anticoagulant. Plusieurs techniques sont utilisées pour la recherche d'anticorps anti SARS-CoV-2 chez les patients. Ce sont les tests de diagnostic rapide (TDR), les tests immuno-enzymatiques (ELISA), les tests immunologiques par chimioluminescence (CLIA) ou les tests séroneutralisation (70).

Le test sérologique par immunochromatographie fonctionne par action capillaire où l'échantillon est acheminé vers une membrane de nitrocellulose qui est pré-fonctionnalisée avec des anticorps de capture et de détection, et généralement des nanoparticules d'or ou d'autres nanoparticules colorées, afin de générer des lignes colorées sur la membrane si l'analyte d'intérêt est présent.

Dans le test immunologique type ELISA, la détection des anticorps d'un patient est réalisée en immobilisant d'abord un antigène de capture connu sur la plaque. Lors de l'ajout de l'échantillon, les anticorps du patient présents dans l'échantillon qui sont spécifiques à l'antigène de capture se lient à l'antigène de capture immobilisé sur la plaque. Un anticorps de détection marqué par une enzyme, généralement de la peroxydase de raifort (HRP), et spécifique à l'un des isotypes d'anticorps (c'est-à-dire IgG, IgM, etc.) est ajouté et se lie

spécifiquement aux anticorps du patient capturés. Un substrat est ajouté et interagit avec l'enzyme, provoquant un changement colorimétrique qui peut être mesuré et corrélé à la présence et/ou à la concentration de l'anticorps.

La chimioluminescence type CLIA repose sur l'utilisation d'un marqueur qui est une molécule luminescente capable d'émettre un rayonnement ou quasi-visible ($\lambda = 300-800$ nm) La méthode hétérogène est le dosage par chimioluminescence le plus largement utilisé. Les méthodes chimioluminescentes peuvent être directes - utilisant des luminophores - ou indirectes - utilisant des marqueurs enzymatiques. L'une ou l'autre méthode peut être compétitive ou non compétitive. Dans les méthodes de chimioluminescence directe, les marqueurs utilisés sont les esters d'acridinium et de ruthénium, tandis que les marqueurs enzymatiques utilisés dans les méthodes indirectes sont la phosphatase alcaline (PAL) avec le substrat adamantyl 1, 2-dioxétane aryl phosphate (AMPPD) et la peroxydase de raifort avec le luminol ou ses dérivés comme substrat (71). Les tests CLIA sont connus pour avoir une sensibilité et des intervalles de mesures supérieures à ceux des tests ELISA (72). L'immunochromatographie, l'ELISA et la CLIA testent plus fréquemment les anticorps type IgG et IgM. En revanche, le test de séroneutralisation mesure le nombre d'anticorps neutralisants, c'est-à-dire ceux qui peuvent se lier efficacement au virus et en bloquer la réplication (59).

Les biomarqueurs recherchés peuvent être des IgG, IgM ou IgA et immunoglobulines totales dirigées contre une ou plusieurs protéines virales : S, N, la sous unité S1, la sous unité S2, le RBD de la sous unité S1 (59) (voir Annexe 3)

L'IgA semble être un meilleur marqueur d'infection récente, car il reste beaucoup plus longtemps que les anticorps spécifiques, après une infection récente.

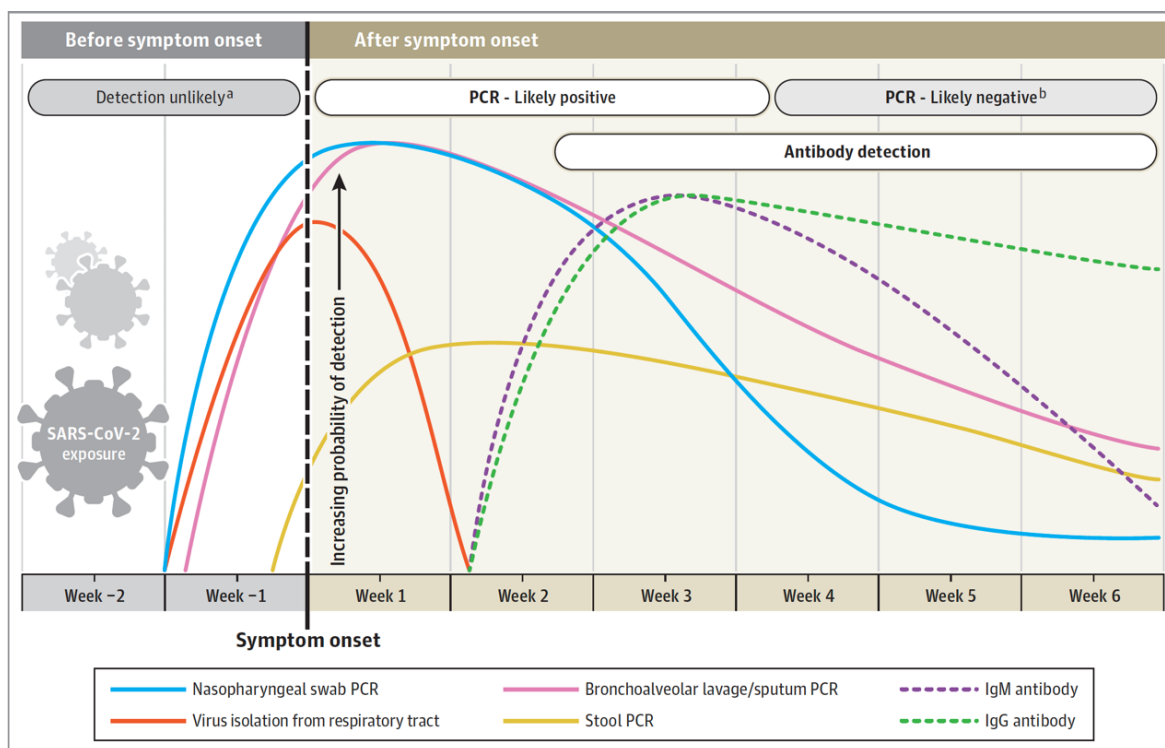
A l'issue de ces tests :

- ✓ Des IgA et/ou IgM positives suggèrent une infection récente par le SRAS-CoV-2.
- ✓ Des titres d'IgG croissants suggèrent une infection récente.

- ✓ Une sérologie SRAS-COV-2 positive ne signifie pas une immunité à l'infection/réinfection.

Dans les cas symptomatiques qui sont négatifs par RT-PCR, la sérologie peut être utilisée comme un test complémentaire mais pas en remplacement des tests RT-PCR (70).

La figure 14 ci-dessous résume la cinétique des différents marqueurs du diagnostic du SARS-CoV-2.



VII. Traitement

1) Prise en charge de la COVID-19 bénigne à modérée

L'OMS recommande un traitement symptomatique pour les patients atteints de la forme bénigne de la COVID-19 constitué d'antipyrétiques en cas de fièvre accompagné d'une alimentation équilibrée et une réhydratation adéquate.

Ces patients doivent être placés en isolement afin d'éviter la transmission à l'entourage (73).

Au Maroc, la circulaire N°63 du 5 Août 2020 du Ministère de la Santé (annexe 4) préconise pour les cas asymptomatiques, en première intention, un traitement de 7 jours mené à domicile et à base de :

- Chloroquine 500 mg, 2 fois par jour ou Sulfate d'hydroxychloroquine 200 mg, 3 fois par jour
- Associée à de l'azythromycine 500 mg à J1 puis 250 mg de J2 à J7
- En plus d'un isolement de 14 jours

Les patients présentant des symptômes modérés ne nécessitant pas une hospitalisation sont aussi soumis au même protocole thérapeutique pendant une période de 10 jours (74).

2) Traitement de la COVID-19 sévère

Pour les cas où les patients sont atteints des formes sévères à grave, l'OMS recommande une hospitalisation avec assistance respiratoire invasive ou non en fonction des cas. Un suivi biologique régulier est nécessaire et une antibiothérapie en cas de surinfection bactérienne (73).

3) Les traitements antiviraux potentiels

À ce jour, il n'existe pas de traitement efficace généralement prouvé contre la COVID-19 ou d'antiviraux contre le SARS-CoV-2, bien que certains traitements aient montré certains avantages dans certaines sous-populations de patients. En date du 2 octobre 2020, il y avait environ 405 médicaments thérapeutiques en développement contre la COVID-19, et près de 318 dans des essais cliniques. Dans le tableau 4, nous résumons les thérapeutiques

potentielles contre le SARS-CoV-2 sur la base des données cliniques et des expériences cliniques publiées. Différents mécanismes sont exploités, à savoir :

- Inhibition de l'entrée du virus.
- Inhibition de la réplication du virus
- Les agents immunomodulateurs

Tableau 4: Potentielles thérapeutiques contre le SARS-CoV-2(21)

Thérapeutique	Indication primaire	Mécanisme dans le COVID-19	Références
L'Umifenovir (Arbidol)	Le traitement de la grippe et de la tuberculose.(Chine et Russie)	Inhibition de l'entrée.	(75,76)
Le mésylate de camostat	Traitement de la pancréatite et de l'œsophagite par reflux postopératoire (japon)	Inhibition de l'entrée du virus. Bloque l'activité de TMPRSS2	(77,78)
La chloroquine et l'hydroxychloroquine	Prévention et traitement du paludisme et des maladies auto-immunes	Inhibition de l'entrée du virus.	(79)(80)
Torémifène	Cancer	Inhibition de l'entrée.	(81)
Emodine	Cancer	Inhibition de l'entrée.	(82)
hACE2 recombinante, anticorps onoclonaux		Inhibiteurs de fusion (protéine S)	(83,84)
Ivermectine	Antiparasitaire		(85)
Le remdesivir, le favilavir, la ribavirine,		Inhibition de la réplication (rdrp).	(79,86)
Lopinavir et le ritonavir		Inhibition de la réplication.	(79,86)
Le favilavir	Traitement de la grippe (Japon)	Inhibition de la réplication.	(87)
La dexaméthasone	Anti-inflammatoire corticostéroïde	immunomodulateurs	(88)
Le tocilizumab et le sarilumab		immunomodulateurs	(89)
Le bevacizumab	Anti-facteur de croissance endothélial (VEGF)	Immunomodulateurs (Réduction de l'œdème pulmonaire)	
L'éculizumab	Anticorps monoclonal	immunomodulateurs	(90)
Interféron-α (seul ou en combinaison)		Interférence à différents niveaux de la réplication	(91–93)
Plasma convalescent			(94)

VIII. Prévention

1) Mesures non spécifiques : les gestes barrières

La COVID-19 se propage facilement et peut se répandre rapidement dans les collectivités. Son mode de transmission a conduit à la recommandation de mesures de prévention simples, capitales pour limiter la transmission. Ce sont les mesures barrières :

- **Prévention de la transmission par contact direct:** limiter les contacts physiques notamment par les mains, utilisation régulière et répétée de solution hydro-alcoolique.
- **Prévention de la transmission par contact indirect** (objets et surfaces souillés) : éviter le passage d'objet des patients infectés aux patients non infectés, nettoyages réguliers des surfaces avec une solution d'hypochlorite diluée
- **Prévention de la transmission aérienne** par le respect d'une distance d'au moins 2 mètres : tousser ou éternuer dans son coude, utiliser des mouchoirs à usage unique, utiliser des masques de protection type FFP2 ou de type chirurgicaux FFP1. Les masques évitent la projection de sécrétions des voies aériennes supérieures ou de salive, ils doivent être portés dès les premiers symptômes et changés toutes les 4 heures.

2) Les mesures spécifiques : la vaccination

En décembre 2020, l'OMS avait recensé plus de 214 candidats vaccins COVID-19, dont 51 étaient en cours d'évaluation clinique, 13 en phase III d'essais et plusieurs vaccins dont l'utilisation est désormais autorisée dans certaines régions (OMS ; COVID-19 Vaccine tracker). Diverses technologies ont été utilisées pour la mise au point d'un vaccin efficace ; toutes ciblant la protéine S comme principal support des vaccins.

Ce sont :

- ✓ **Vaccins à virus inactivés**

Les virus sont physiquement ou chimiquement inactivés mais préservent l'intégrité de la particule virale, qui sert d'immunogène.

✓ **Les vaccins à particules ou nanoparticules de type viral**

Dans cette stratégie, les protéines virales structurelles sont co-exprimées pour former des particules non infectieuses qui servent d'immunogène au vaccin. Elles ressemblent à de véritables virions mais ne contiennent pas le génome du virus.

✓ **Les vaccins à base de sous-unités protéiques**

Cette stratégie ne comprend que des protéines ou des peptides viraux clés qui peuvent être produits in vitro via des bactéries, des levures, des insectes ou des cellules de mammifères. Le plus grand nombre de cas de syndrome respiratoire aigu sévère coronavirus 2 (SARS-CoV-2) aux stades clinique et préclinique sont basés sur cette stratégie.

✓ **Les vaccins à vecteur viral**

Le(s) gène(s) codant pour le(s) antigène(s) pathogène(s) est (sont) cloné(s) dans des vecteurs viraux non répliquables ou répliquables (tels que les adénovirus). Le ou les antigènes sont produits par les cellules hôtes transduites après immunisation.

✓ **Les vaccins à ADN ou ARNm**

Les vaccins à ADN ou ARNm présentent l'avantage d'une fabrication rapide contre les agents pathogènes émergents. Pour les vaccins à ADN, le ou les antigènes viraux codés par un ADN recombinant plasmidique sont produits dans les cellules hôtes par un processus séquentiel de transcription et de traduction. En revanche, les vaccins ARNm sont synthétisés par transcription in vitro et produisent des antigènes viraux dans le cytoplasme par traduction directe des protéines in vivo.

✓ **Les vaccins à virus vivant atténué**

Dans cette stratégie, le virus est atténué par passage in vitro ou in vivo ou par mutagenèse génétique inverse. Le virus résultant devient non pathogène ou faiblement pathogène mais conserve son immunogénicité en imitant l'infection par un virus vivant.

Dans le tableau ci-dessous annexe nous résumons les candidats vaccins contre le SARS-Cov-2 (95).

**PARTIE II: CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES,
CLINIQUES ET VIROLOGIQUES DES PATIENTS ATTEINTS DE
LA COVID-19 A L'HMIMV.**

I. Matériels et méthodes

1) Type, lieu et période de l'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective et mono-centrique d'une cohorte de 51 patients réalisée au laboratoire de virologie (Centre de virologie des maladies infectieuses et tropicales) de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat sur une période d'un mois (Mars 2020). Les patients inclus sont ceux qui ont été testés positifs par PCR pour le SARS-CoV-2 et pour lesquels des PCR de contrôle ont été réalisées au sein du laboratoire. Du fait du caractère observationnel et rétrospectif de l'étude, il n'a pas été nécessaire de recueillir de consentement auprès des patients.

2) Recueil des données

Les informations et paramètres principaux du diagnostic ont été relevés et numérisés sur fichier Excel à partir de la fiche de renseignement clinique adoptée par le Ministère de Santé Marocain (Annexe 5).

Nous avons recueillis pour chaque patient positif :

❖ L'identité du patient

- Sexe
- Age
- Ville
- Nationalité

❖ Les facteurs épidémiologiques

- Voyage en pays COVID-19 +
- Contact avec un personne COVID-19 +
- Passage dans une structure hospitalière avec des patients COVID-19 +
- Contact avec une personne ayant séjourné dans un pays COVID-19 +
- Professionnel de la santé

❖ **Les données cliniques**

- Date de début des symptômes
- Types de symptômes
- Fièvre
- Toux et mal de gorge
- Difficulté respiratoire
- Céphalées
- Myalgies
- Douleurs abdominales
- Diarrhées

❖ **Comorbidités**

- Hypertension artérielle
- Maladie respiratoire
- Grossesse
- Immunodépression

❖ **Données de la RT-PCR**

- Date de dépistage
- Résultats de la RT-PCR à J0 ; J6 ; J10 ; J14 ; J16 ; J18 puis J21
- Valeurs des Cycle Treshold (Ct)
- Evolution

3) La RT-PCR

a. Réalisation et acheminements des prélèvements

Un écouvillonnage naso-pharyngé a été réalisé par du personnel formés au niveau du service des maladies infectieuses. Les prélèvements étaient acheminés au laboratoire et traités généralement sans délai sinon conservés à +4°C sans excéder 48 h.

b. L'extraction de l'ARN viral

L'extraction et la purification de l'ARN viral a été réalisée par une technique d'extraction automatisée en utilisant le kit EZ1 DSP Virus (QIAGEN). Ce Kit utilise la technologie des particules magnétiques pour l'isolation et la purification automatisées des acides nucléiques viraux et de l'ADN cellulaire.

c. Réalisation de la RT-PCR au laboratoire

La recherche de l'ARN viral a été réalisée par le kit TIB MOLBIOL LightMix (Roche). Les gènes cibles étaient le gène E de l'enveloppe et le gène RdRp de l'ARN polymérase ARN dépendante. L'amplification a été réalisée sur le thermocycleur Z480 (Roche). La sensibilité du test est de 100% (IC 95% = 93%- 100,00%) et la spécificité diagnostique de 100% (IC 95 % = 96 %-100 %).

e) Analyse statistique

Les données épidémiologiques et virologiques recueillies ont été analysées statistiquement par le logiciel Excel. L'analyse valide de la variance repose obligatoirement sur la vérification de deux hypothèses, à savoir la normalité et l'homogénéité. L'hypothèse de normalité a été vérifiée par le graphique QQ plot et confirmée statistiquement par le test Shapiro-Wilk calculé pour chaque niveau de groupe. Pour tester l'hypothèse de l'homogénéité des variances, le graphique residuals versus fits (résidus versus prédictions) a été utilisé avec le test statistique de Levene. L'étude de l'impact de ces facteurs épidémiologiques sur le délai de négativation a été réalisée pour une analyse de la variance à une variable pour le sexe et l'âge (ANOVA I) ; puis à deux variables pour le sexe et l'âge combinés (ANOVA II). Le niveau de signification de la p-value était de 0,05%.

II. Résultats

1) Données épidémiologiques

Nous avons colligé 51 cas d'infection au SARS-CoV 2 au cours de notre étude. 49 d'entre eux étaient des Marocains et 2 étaient des étrangers.

a. Distribution des cas d'infection en fonction de l'âge

La distribution selon l'âge des cas d'infection au SARS-CoV-2 est représentée dans la figure 15 avec une majorité des cas se trouvant dans les 55 à 64 ans.

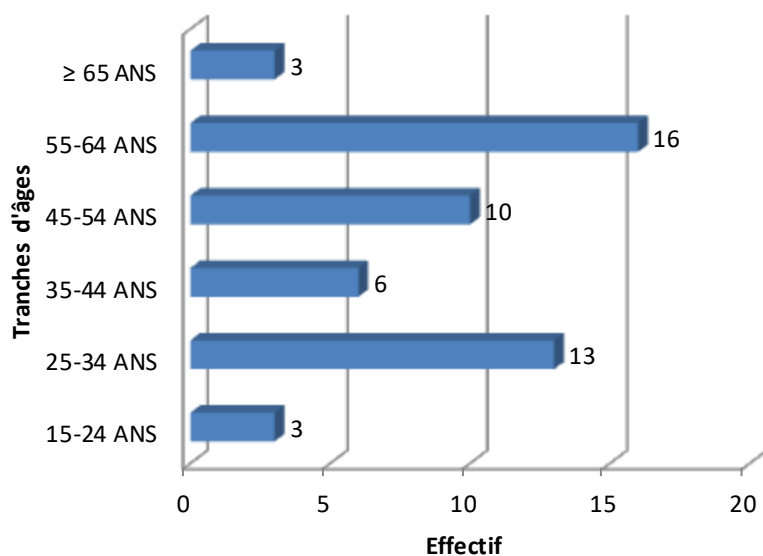


Figure 15: Répartition des cas positifs selon l'âge

b. Distribution des cas d'infection en fonction du sexe

Dans notre étude, les patients atteints du COVID-19 étaient en majorité des hommes avec une sex-ratio H/F = 1,55. (fig. 16)

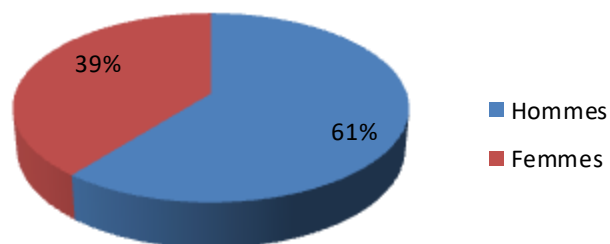


Figure 16: Répartition des cas selon le sexe

2) Données cliniques

Du point de vue des manifestations cliniques, 88% des patients étaient symptomatiques et 12 % étaient asymptomatiques. La répartition des différents symptômes est représentée dans la figure 17. Des comorbidités ont été trouvées que chez 6 patients (Fig. 18).

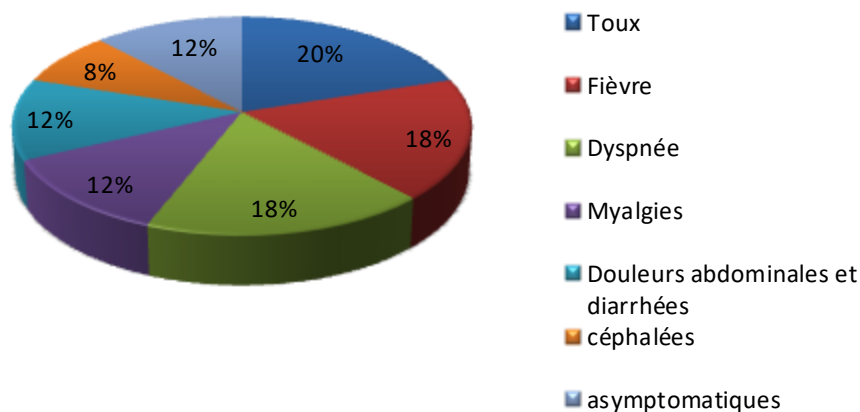


Figure 17: Différentes manifestations cliniques

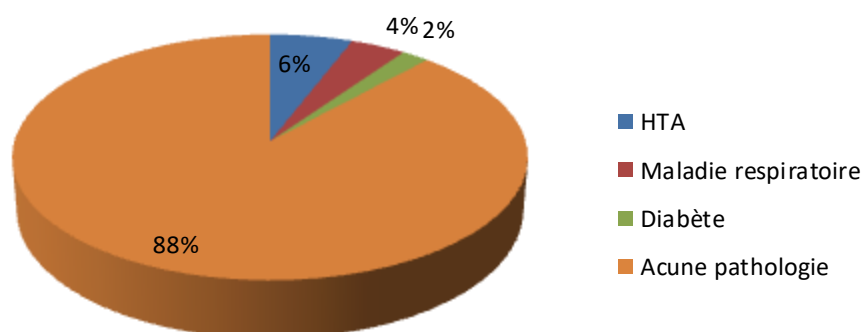


Figure 18: Répartition des différentes comorbidités.

3) Données du diagnostic virologique

a. Taux de positivité de la RT-PCR

Nous rapportons ici l'évolution au cours du temps de la positivité et de la négativité des tests RT-PCR chez les patients diagnostiqués pour une infection au SARS-CoV-2, au cours du temps.

Le graphe montre une forte positivité des échantillons pendant les premiers jours puis diminue lentement jusqu'au quatorzième jour (J14) puis plus rapidement après J14 (Fig. 19).

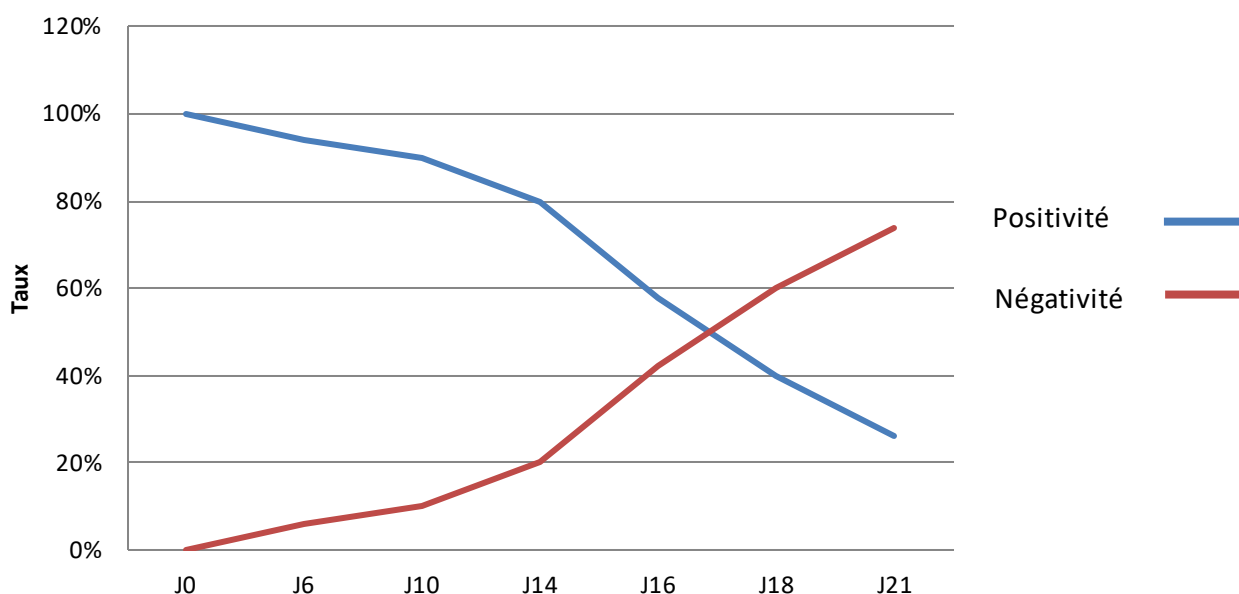


Figure 19: Taux de positivité et de négativité de la RT-PCR en fonction du temps

b. Période de positivité et de négativité

La période de positivité se définit comme la période allant de la date du début des symptômes à la date du dernier test positif. Dans notre étude, il est en moyenne de 16 jours (n=45).

Le délai de négativité de la RT-PCR se définit comme la période allant de la date du début des symptômes à la date du premier test négatif. Il s'élève à 18,75 jours (n=37). Nous avons exclu de cette détermination les patients asymptomatiques (n=6), les patients ayant eu des tests non négatifs jusqu'à J21 (n=5), les patients suivis ailleurs (n=2) et les patients décédés (n=1).

4) Statistique descriptive du profil dynamique de la RT-PCR en fonction des données épidémiologiques

a. Statistique descriptive du délai de négativation de la RT-PCR en fonction du sexe

Le tableau et la figure ci-dessous présentent les statistiques descriptives du profil de la RT-PCR en fonction du sexe, avec le nombre d'observation dans chaque catégorie (n), les valeurs minimales(min) et maximales(max) du délai de négativation, la valeur médiane calculée de ce délai (median), l'écart interquartile (iqr), la valeur moyenne (mean), l'écart type (sd), l'erreur standard ou l'erreur type, et le centre de l'intervalle de confiance (ci).

Ces données montrent une variabilité plus grande dans la population féminine que dans la population masculine, mais des moyennes proches.

Tableau 5 : Statistique descriptive du délai de négativation de la RT-PCR en fonction du sexe

Sexe	n	min	max	median	iqr	mean	sd	se	ci
Femme	25	10	28	19	7	19.96	5.152	1.03	2.127
Homme	16	9	28	20	5.55	19.438	4.56	1.14	2.43

n = nombre d'observations, min = valeur minimale, max = valeur maximale, median = valeur médiane, iqr = écart interquartile, mean = valeur moyenne, sd = écart type, se = erreur standard = erreur type, ci = centre de l'intervalle de confiance

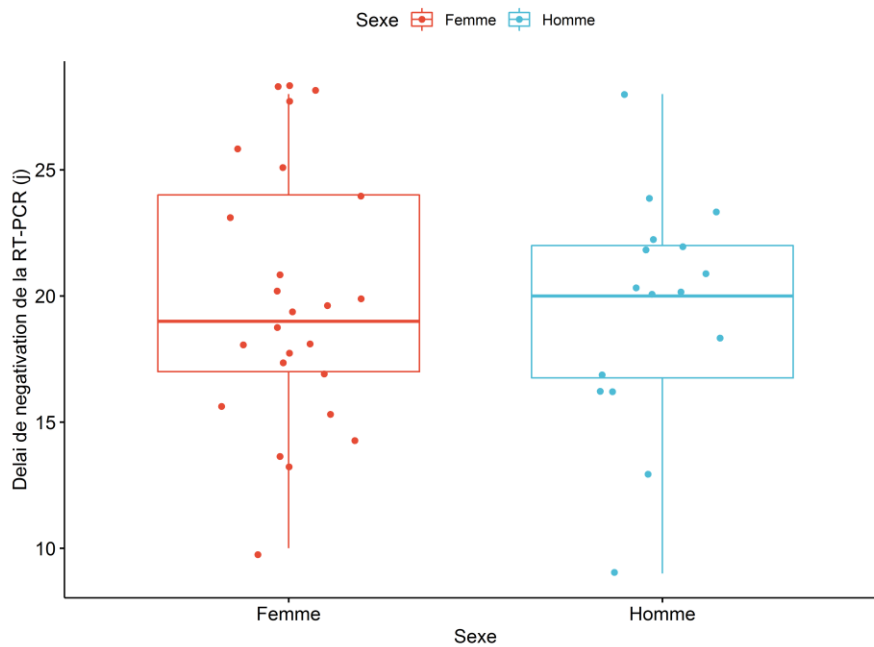


Figure 20: Statistique descriptive du délai de négatation de la RT-PCR en fonction du sexe

b. Statistique descriptive du délai de négatation de la RT-PCR en fonction de l'âge

Les résultats de la statistique descriptive du profil de la RT-PCR en fonction de l'âge montrent de plus grandes variabilités pour les patients âgés de 45 à 64 ans, et des délais peu variables chez les plus de 65 ans (Tableau 6 et figure 19).

Tableau 6 : Statistique descriptive du délai de négatation de la RT-PCR en fonction de l'âge

Age	n	min	max	median	iqr	mean	sd	se
[>65]	3	14	26	20	6	20	6	3,464
[25_34]	8	13	25	18,5	3,25	19,25	3,845	1,359
[35_44]	5	10	21	16	2	16,2	4,025	1,8
[45_54]	10	9	28	19,5	6,5	20	5,812	1,838
[55_64]	15	13	28	21	4	21	4,766	1,231

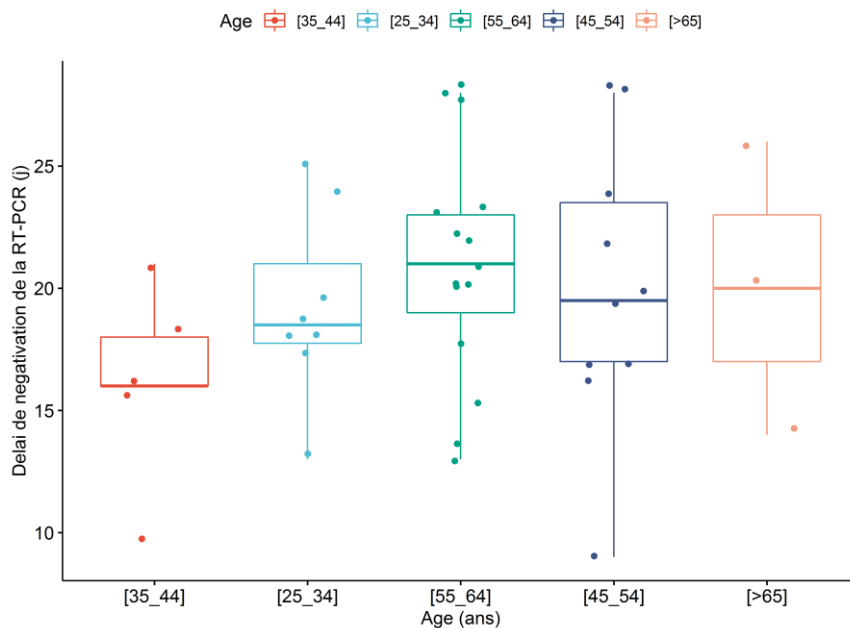


Figure 21 : Statistique descriptive du délai de négativation de la RT-PCR en fonction de l'âge

5) Analyse de l'effet des facteurs épidémiologiques sur le profil dynamique

a. Effet du sexe sur le délai de négativation de la RT-PCR

La situation approximative des points le long de la ligne de référence permet de supposer une normalité. Cette conclusion est étayée par le test Shapiro-Wilk. La p-value n'est pas significative ($p = 0,23 > 0,05$ et $p = 0,73 > 0,05$ respectivement pour les groupes « Femme » et « Homme »), on peut donc supposer une normalité.

L'hypothèse d'homogénéité des variances a été vérifiée. Le graphique montre qu'il n'existe pas de relations évidentes entre les résidus et les valeurs calculées. On peut donc supposer l'homogénéité des variances. Cette conclusion est étayée par le test de Levene non significatif avec une p-value = $0,45 > 0,05$

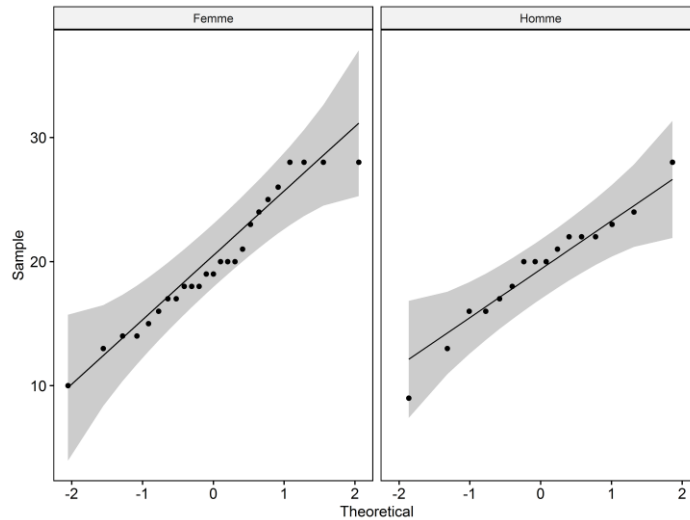


Figure 22: Diagramme Quantile-Quantile de vérification de la normalité du facteur sexe

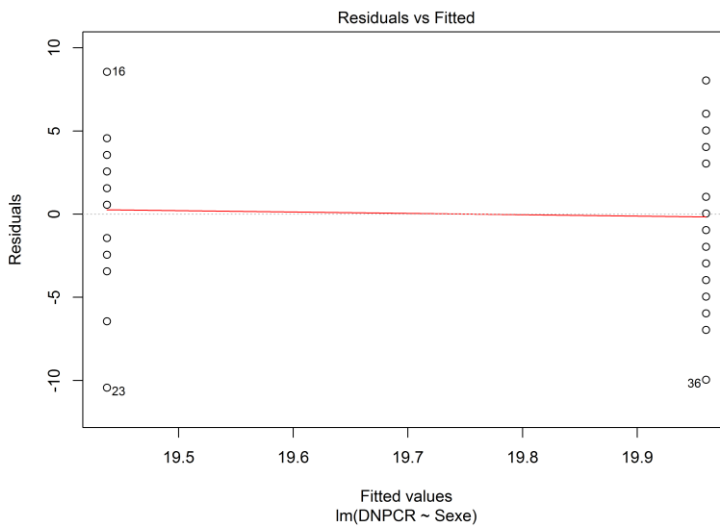


Figure 23: Diagramme de Levene de vérification de l'homogénéité du facteur sexe

Le tableau ANOVA ci-dessus montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les groupes ($p = 0,016$), qui sont mis en évidence par $F(1,45) = 0,109$ et $p = 0,743 > 0,05$.

En conclusion, le sexe n'a pas un effet statistiquement significatif sur le délai de négativation de la RT-PCR.

Tableau 7: Analyse de la variance au facteur sexe

Effect	DFn	DFd	F	p
Sexe	1	39	0.109	0.743

DFn : Degree of freedom (degré de liberté) ; DFd : Denominator (dénominateur) ; F : Fisher

b. Effet de l'âge sur le délai de négativation de la RT-PCR

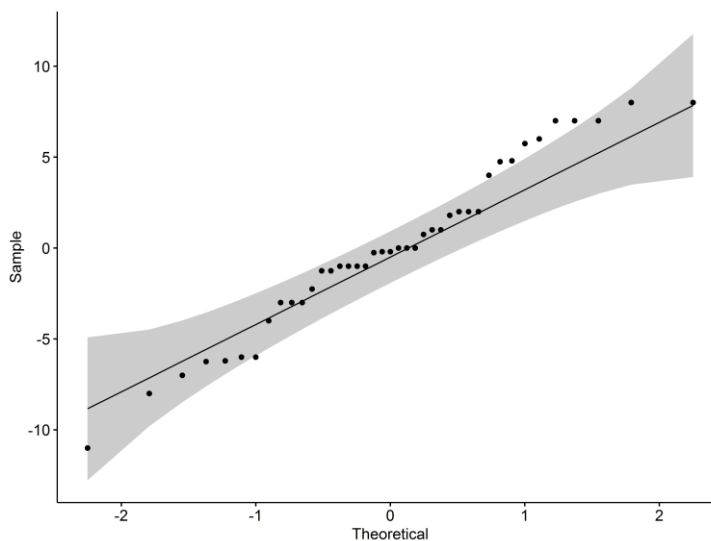


Figure 24: Diagramme Quantile-Quantile de vérification de la normalité du facteur âge

L'hypothèse de normalité a été vérifiée. Le QQ plot étaye l'hypothèse de normalité qui est confirmée par le test Shapiro-Wilk avec une p-value non significative ($p = 0,33 > 0,05$).

Le graphique des résidus versus prédictions semble valider l'hypothèse d'homogénéité qui est confirmée par le test de Levene non significatif avec une p-value = 0,76 > 0,05.

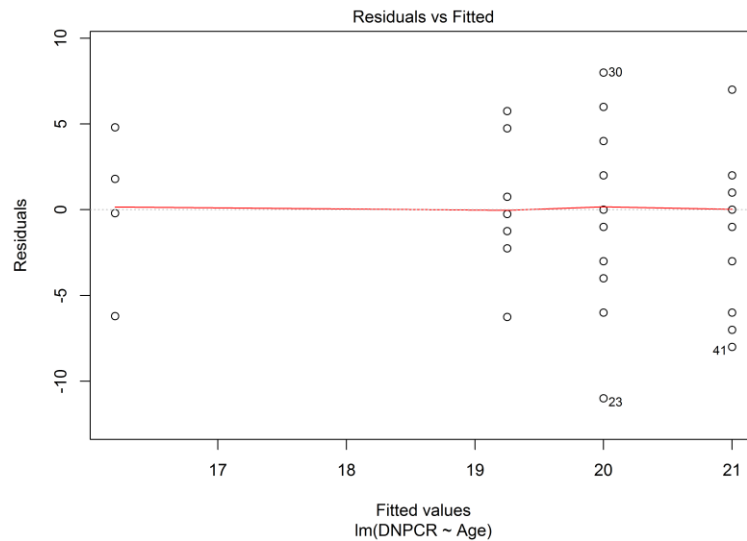


Figure 25: Diagramme de Levene de vérification de l'homogénéité du facteur âge

Tableau 8 : Analyse de la variance au facteur âge

Effect	DFn	DFd	F	p
Age	4	36	0.932	0.457

Le tableau 8 de l'analyse de variance ci-dessus montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les groupes ($p = 0,016$), qui sont mis en évidence par $F(5,41) = 0,932$ et $p = 0,457 > 0,05$. On peut donc conclure que l'âge n'a pas un effet statistiquement significatif sur le délai de négativation de la RT-PCR.

**c. Effet combiné du sexe et de l'âge sur le délai de
négativisation de la RT-PCR (ANOVA II)**

L'effet combiné du sexe et de l'âge n'a pas d'effet statistiquement significatif sur le délai de négativisation de la RT-PCR ($p = 0,58 > 0,05$).

Tableau 9: Analyse de la variance à deux facteurs combinés: Sexe et âge

Effect	DFn	DFd	F	p
Sexe	1	32	0.435	0.514
Age	4	32	0.972	0.436
Sexe : Age	3	32	0.653	0.587

**d. Effet de l'âge (non regroupé en classe) sur le délai de
négativisation de la RT-PCR**

Si on considère l'âge non regroupé par classe, l'âge a un effet statistiquement significatif sur le délai de négativisation de la RT-PCR à un seuil de probabilité de 10% ($p = 0,07$).

Tableau 10: Analyse de la variance à l'âge non groupé par classe

Effect	DFn	DFd	F	p
Age	1	45	3.37	0.073

III. Discussion

1) Caractéristiques épidémiologiques

Dans notre étude il a été retrouvé que la majorité des patients atteints de COVID-19 étaient des hommes adultes avec un taux de 61 %. Ces résultats s'accordent avec les données d'autres études à l'instar de celle menée par Chen et al. en Chine (51,4% d'hommes) (96). Tandis que l'étude menée par C. Prezioso et al. en Italie révèle une prépondérance de la population féminine (53,1% de femmes contre 46,9% d'hommes) parmi les patients atteints de COVID-19 (97).

La moindre sensibilité des femmes aux infections virales pourrait être attribuée à la protection du chromosome X et des hormones sexuelles, qui jouent un rôle important dans l'immunité innée et adaptative (98). Une étude menée par Zhao et al a révélé qu'il existe une plus grande concentration de récepteurs ACE2 dans les poumons des hommes que dans chez les femmes (99). De même, une équipe de chercheurs en Espagne a émis l'hypothèse que les gènes des récepteurs d'androgènes pourraient être des facteurs de risque d'une gravité accrue chez les hommes après avoir observé que 71 % des patients masculins hospitalisés pour le COVID-19 présentaient une alopécie cliniquement significative due aux récepteurs d'androgènes (100).

En ce qui concerne l'âge, des études menées à Wuhan, point de départ de la pandémie, décrivent une majorité de patients âgés en moyenne de 55,5 ans, 49 ans et 56 ans selon les études (2,4,54). Les sujets âgés de plus de 50 ans représentaient environ la majorité des malades (2). De même dans notre étude, nous avons enregistré une majorité des patients ayant entre 55 et 64 ans. Mais les plus de 65 ans ne représentaient que 5,88 %.

Il semblerait que l'âge soit lié à une différence dans la réponse immune de l'hôte mais aussi à la présence de comorbidités fréquentes. Ceci peut s'expliquer par le fait que dans le système immunitaire vieillissant, il y a une lymphopénie progressive avec déplétion des cellules T CD4+ et diminution de la fonction des cellules T régulatrices, ce qui entraîne une prolifération lymphocytaire homéostatique, avec une tendance à des réactions auto-immunes et inflammatoires excessives. Ce phénomène peut être aggravé par une diminution de la capacité des macrophages sénescents à phagocyter les cellules

apoptotiques, ce qui entraîne un état pro-inflammatoire général. Le déséquilibre du système immunitaire âgé est ensuite exacerbé par une infection telle que la COVID-19, qui accentue encore la déplétion des cellules CD4+T et la réponse inflammatoire des macrophages. (47,101)

2) Caractéristiques cliniques

Du point de vue clinique, seulement 12 % de nos patients étaient asymptomatiques. On découvre dans la littérature des résultats très variables allant de 18 à 88 % en fonction des populations (55). Comme décrits, les symptômes manifestés étaient essentiellement la fièvre associée à la toux et les myalgies. Mais aussi la dyspnée, les céphalées et des signes digestifs types diarrhées, nausées, douleurs abdominales.

Le tableau 11 montre les différentes proportions des symptômes rapportés dans la littérature.

Tableau 11: comparaison des différents symptômes de la COVID-19 retrouvés dans la littérature

Symptômes	Fièvre	Toux	Myalgies	Dyspnée	Céphalées	Signes digestifs	Références
Chen et al (n=99)	82	81	11	31	8	3	(2)
Huang et al (n=41)	40	31	18	22(n=40)	3 (n=38)	1(n=38)	(54)
Wang et al (n=138)	136	82	48	43	9	14	(4)
Notre étude (n=51)	9	10	6	9	4	6	

3) Caractéristiques virologiques

Le délai entre le début des symptômes et la première PCR positive était de 3 jours (IQR 2-4 ; intervalle 0-5 ; n=45). La période médiane entre le début des symptômes et la dernière PCR était de 17 jours (IQR 12-20 ; intervalle 4-25 ; n=45). L'étude menée par A.T Xiao et al a révélé respectivement un délai de 8 jours (IQR 5-12 ; intervalle 0-32 ; n=301) du début des symptômes à la première PCR positive et de 16 jours (IQR 10-23 ; intervalle 0-42 ; n=301) avec la dernière PCR positive (102).

Chez certains patients on a noté des tests positifs à la suite d'un test négatif, ceci peut s'expliquer par l'excrétion virale intermittente dans les échantillons respiratoires de patients atteints de SRAS-CoV-2 (103).

La recherche de l'impact des facteurs épidémiologiques sur le profil dynamique notamment sur le délai de négativation a montré que ni le sexe ($p=0.74$) ni l'âge ($p=0.45$) ni ces deux facteurs combinés ($p=0.58$) n'avaient même pas significatif sur le profil dynamique car les p-values >0.05 . Toutefois il est trouvé dans l'étude d'A.T Xiao et al que l'âge avait un impact significatif sur le délai de négativation ($p=0.015 <0.05$). Ainsi chez les patients de plus de 65 ans les tests PCR restaient positifs plus longtemps que dans les autres groupes d'âge ($p<0.001$). (102)

4) Limites de l'étude

Lorsque nous essayons d'analyser l'impact de l'âge non groupé par classe sur le délai de négativation de la PCR et à un seuil de probabilité de 10 % c'est-à-dire une valeur de $p < 0.1$, nous nous rendons compte que ce facteur a un impact significatif avec une p value = $0.07 < 0.1$. (Voir paragraphe [5](#).d. des résultats).

Cette différence marquée pourrait être expliquée par la taille de l'échantillon où les différents groupes (sexe et âge) sont peu représentés avec des effectifs faibles.

CONCLUSION

Le monde est frappé par une nouvelle pandémie dû à un virus émergent: le SARS-CoV-2. Virus qui jusque-là était inconnu du monde médical et scientifique. Plusieurs études ont été menées dans le but de connaître tous les aspects épidémiologiques et cliniques et virologiques de la maladie causée par le nouveau coronavirus. C'est dans ce but que c'est inscrit notre étude au terme duquel nous avons trouvé comme caractéristiques épidémiologiques une prédominance de l'infection dans la population masculine avec 61% des hommes contre 39% de femme et chez les personnes âgées de plus de 50 ans. D'un point de vue clinique, la majorité de nos patients ont présenté des symptômes communs et légers types respiratoires associés à une fièvre et des myalgies chez la plupart d'entre eux. La confirmation du diagnostic positif de la COVID-19 était objectivée par un test RT-PCR par détection de l'amplification des gènes E et RdRp dans les prélèvements nasopharyngés. Les données recueillies du suivi virologique de ces patients au bout de 21 jours ont permis de faire une analyse d'impact des facteurs épidémiologiques sur les aspects virologiques. Toutefois l'analyse de l'impact du sexe et de l'âge n'a pas révélé en effet significatif sur le délai de négativation de la RT-PCR, définissant la limite de notre étude due à la taille de l'échantillon, avec la perspective de mener une étude considérant un échantillon plus conséquent et plus représentatif, qui pourrait révéler des résultats plus significatifs.

RESUME

Introduction : Face à la rapide propagation de la nouvelle maladie à coronavirus causée par l'infection au SARS-CoV-2, nous avons mené une étude afin de décrire les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et virologiques des patients atteints de COVID-19 suivis à l'HMIMV lors du premier mois de la pandémie au Maroc.

Matériel et méthodes : Nous avons collecté des cas diagnostiqués au laboratoire de virologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V de Rabat, sur une période d'un mois (Mars 2020). Les patients testés positifs (J0) ont subi des tests RT-PCR sur prélèvements nasopharyngés à J6 ; J10 ; J14 ; J16 ; J18 puis J21. De plus, les données épidémiologiques et cliniques ont été recensées à partir de la fiche de renseignements cliniques.

Résultats : Notre enquête a colligé 51 patients positifs. Il y avait 61% d'hommes contre 39% de femmes. La répartition selon l'âge a montré une majorité de cas ayant entre 55 ans à 64 ans (31%). Parmi tous ces patients, 88% présentaient des symptômes de type respiratoire associés à une fièvre et des céphalées. L'étude du profil dynamique a révélé une période de positivité moyenne de 16 jours (n=45) et un délai de négatation moyen de 18,75 jours (n=37). L'analyse de l'impact du sexe et de l'âge sur le profil a révélé un effet non significatif.

Discussion et conclusion : Les aspects épidémiologiques observés semblent être concordant avec ceux décrits dans la littérature à savoir la prédominance masculine et des personnes âgées parmi les patients atteints. Toutefois, on retrouve dans certaines études une prédominance féminine. Quant à l'impact des facteurs sexe et âge sur le délai de négatation, il est rapporté que le sexe masculin et l'âge de plus de 65 ans étaient des facteurs allongeant le délai de négatation de la RT-PCR. Ces analyses nous mènent à proposer une étude sur un échantillon plus grand avec une meilleure représentation des différentes classes d'âge pour des résultats plus significatifs.

SUMMARY

Introduction: Facing the rapid spread of the new coronavirus disease caused by SARS-CoV-2 infection, we conducted a study to seek to describe the profile of viral detection by RT-PCR in patients with COVID-19.

Patients and methods: We collected cases diagnosed at the virology laboratory of the Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V in Rabat, over a period of one month (March 2020). Patients who tested positive (D0) underwent RT-PCR tests on nasopharyngeal swabs at D6; D10; D14; D16; D18 and D21. Epidemiological and clinical data were recorded. All these data were statistically analyzed by defining as parameters of the dynamic profile the time of positivity and negativity of the RT-PCR.

Results: Our survey collected 51 positive cases. There were 61% males and 39% females. The age distribution showed a majority of cases between 55 and 64 years of age (31%). Among all these patients, 88% had respiratory symptoms associated with fever and headache. The dynamic profile study revealed a mean time to positivity of 16.11 days (n=45) and a mean time to negativity of 18.75 days (n=37). Analysis of the impact of gender and age on the profile revealed a non-significant effect.

Discussion and conclusion: The epidemiological aspects observed seem to be consistent with those described in the literature, i.e. the predominance of males and elderly people among the affected patients. However, in some studies there is a female predominance. As for the impact of sex and age factors on the time to negativation, it is reported that male sex and age over 65 years were factors that prolonged the time to negativation of the RT-PCR.

These analyses lead us to propose in perspective a study on a larger sample with a better representation of the different age groups for more significant results.

Résumé en Arabe

العنوان: دراسة الملف الشخصي الديناميكي لتحليل الجزيئي للحمض النووي عند المرضى المصابين بفيروس كورونا في مستشفى محمد الخامس العسكري بالرباط.

المؤلف: نام تشوكلي كريستينا فيليبيا لينانيو

الكلمات الرئيسية: الملف الديناميكي ، التحليل الجزيئي للحمض النووي ، العامل الوبائي فيروس كورونا المستجد، السارس كوف 2.

مقدمة: في مواجهة الانتشار السريع لمرض الفيروس التاجي الجديد الناجم عن عدوى السارس كوف 2 ، أجرينا دراسة للسعي لوصف ملف الكشف عن الفيروس بواسطة التحليل الجزيئي للحمض النووي عند المرضى المصابين بـ كوفيد.

الإمكانيات المتاحة: قمنا بجمع الحالات التي تم تشخيصها في مختبر علم الفيروسات بمستشفى محمد الخامس العسكري للتربية بالرباط ، على مدى شهر (مارس 2020). خضع المرضى الذين تم اختبارهم إيجابيًا في اليوم الأول (J0) لاختبارات التحليل الجزيئي للحمض النووي على مسحات البلعوم الأنفي في J6 ؛ J10 ؛ J14 J16 ؛ J18 ثم J21. مع تحديد البيانات الوبائية والسريرية. تم تحليل كل هذه البيانات إحصائياً من خلال تحديد كمعيار للملف الديناميكي التحليلات الإيجابية متأخرة والسلبية لـ التحليل الجزيئي للحمض النووي.

النتائج: جمع تحقيقنا 51 حالة إيجابية. كان هناك 61% رجال مقابل 39% نساء. وأظهر التوزيع العمري أن غالبية الحالات بين 55 و 64 سنة (31%). من بين كل هؤلاء المرضى ، أصيب 88% بأعراض تنفسية مرتبطة بالحمى والصداع. كشفت دراسة الملف الشخصي الديناميكي عن متوسط وقت للإيجابية يبلغ 16.11 يوماً (ن = 45) ومتوسط وقت التأخير قدره 18.75 يوماً (ن = 37). كشف تحليل تأثير الجنس والعمر على الملف الشخصي عن تأثير ضئيل.

المناقشة والاستنتاج: يبدو أن الجوانب الوبائية التي تمت ملاحظتها تتفق مع تلك الموصوفة في المقالات ، أي غلبة الرجال وكبار السن بين المرضى المصابين. ومع ذلك ، تظهر بعض الدراسات غلبة للمرأة. فيما يتعلق بتأثير عوامل الجنس والعمر على وقت النفي ، تم الإبلاغ عن أن جنس الذكور والعمر فوق 65 عامًا كانا من العوامل التي أطالت الوقت لسلبية التحليل الجزيئي للحمض النووي.

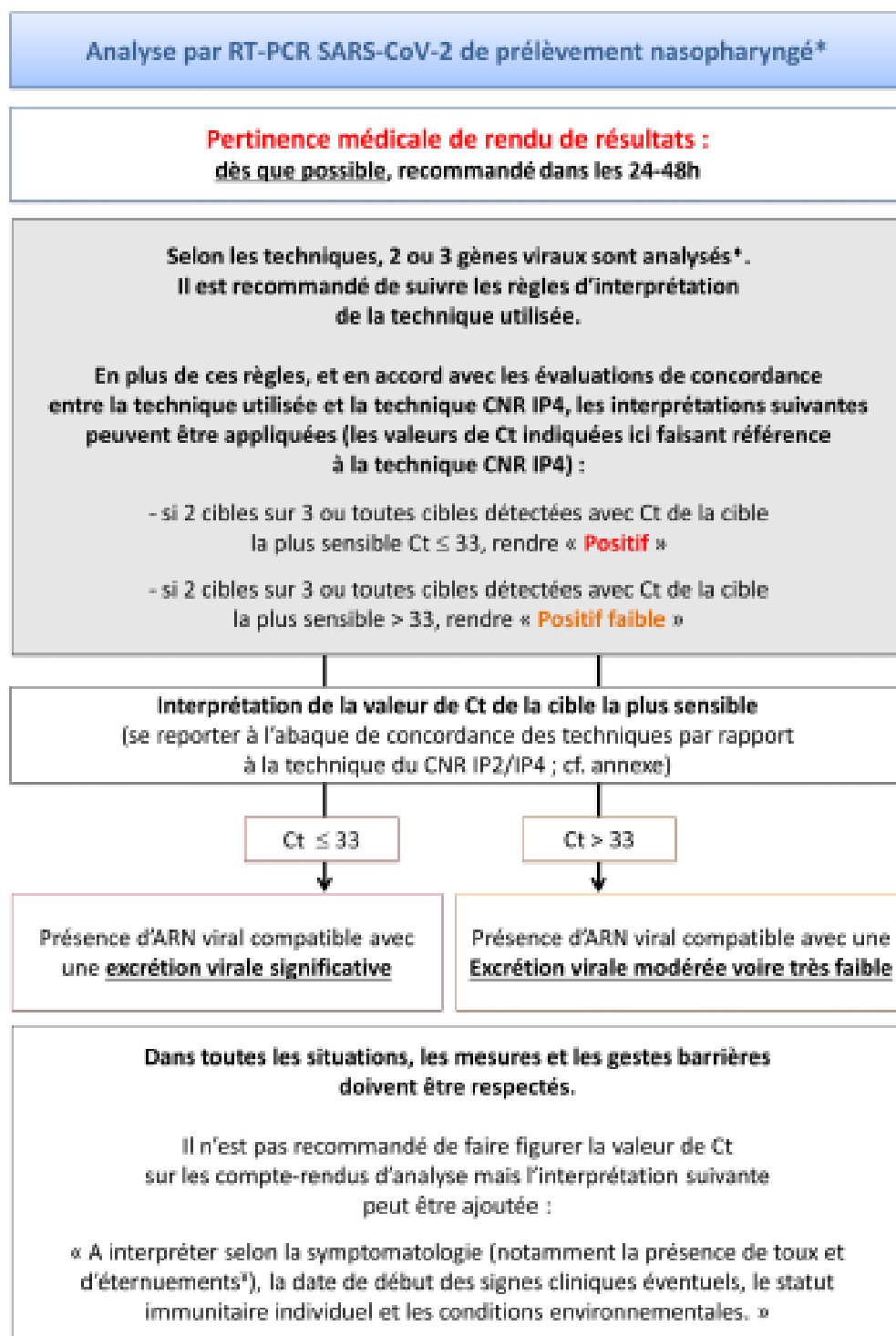
تقودنا هذه التحليلات إلى اقتراح دراسة على عينة أكبر مع تمثيل أفضل للفئات العمرية المختلفة للحصول على نتائج أكثر أهمية

CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES, CLINIQUES ET VIROLOGIQUES DES
PATIENTS ATTEINTS DE LA COVID-19 A L'HMIMV.

ANNEXE 1 : Tableau comparatif des tests de diagnostic moléculaire approuvés par la FDA-EUA(59)

Manufacturer	Test	SARS-CoV-2 Biomarkers	Sample Types Accepted	Time to Result	Sensitivity/Specificity
CDC	2019-nCoVReal-Time RT-PCR Diagnostic Panel	N1, N2, RP	Nasopharyngeal (NP) swab, Oropharyngeal (OP) swab, Sputum, Tracheal aspirates, Bronchoalveolar lavage (BAL), Nasal aspirate	~80 min for 1 sample	100% (13/13)/100% (104/104)
QIAGEN	QIAstat-Dx\ RespiratorySA RS-CoV-2 Panel	ORF1b, E	NP swab	~1 h for 1 sample	100% (30/30)/100% (30/30)
PerkinElmer	PerkinElmer® New Coronavirus Nucleic Acid Detection Kit	ORF1ab and N	NP swab, OP swab	~2 h for 96 samples	X LOD (100%, 20/20)4X LOD (100%, 20/20)/100% (94/94)
Thermo Fisher Scientific	TaqPath COVID-19 Combo Kit	ORF1b, S, N	NP swab, BAL, Nasal swabs, OP swabs, Nasal aspirate, Mid-turbinate swabs	3 h for 94 samples	100% (60/60)/100% (60/60)
Roche	cobasSARS-CoV-2	ORF1a/b, E	NP swab, OP swab	3 h for 96 samples	100% (50/50)/100% (100/100)
Abbott Molecular	Alinity m SARS-CoV-2 Assay	RdRp, N	NP swabs, OP swabs, BAL	~2 h for 24 samples	100% (40/40)/96.5% (55/57)
Becton, Dickinson & Company (BD)	BD SARS-CoV-2 Reagents for BD MAX System	N1, N2	NP swab, OP swab	3 h for 24 samples	1-2X LOD (95%, 38/40)3-5X LOD (100%, 10/10); 100% (29/29)

ANNEXE 2 : Logigramme proposé pour l'interprétation des tests de RT-PCR ciblant 2 ou 3 gènes viraux(64)



CARACTERISTIQUES EPIDEMIOLOGIQUES, CLINIQUES ET VIROLOGIQUES DES
PATIENTS ATTEINTS DE LA COVID-19 A L'HMIMV.

ANNEXE 3 : Tableau comparatif des tests sérologiques approuvés par la FDA-EUA (59)

Manufacturer	Test	Test Type	SARS-CoV-2 Biomarkers	Time to results	Sensitivity/ Specificity
Autobio Diagnostics	Anti-SARS-CoV-2 Rapid Test	Lateral flow immunoassay	IgG and IgM only against S protein	~15 min	99.0% (299/302)/99.04% (309/312)
Cellex	qSARS-CoV-2 IgG/IgM Rapid Test	Lateral flow immunoassay	IgG and IgM only against S and N proteins	~15–20 min	93.8% (120/128)/96% (240/250)
Ortho Clinical Diagnostics	VITROS Immunodiagnostic Products Anti-SARS-CoV-2 Total Reagent Pack	Chemiluminescent immunoassay	Total antibody against S1 protein	~50 min	100% (49/49)/100% (400/400)
DiaSorin	LIAISON SARS-CoV-2 S1/S2 IgG	Chemiluminescent immunoassay	IgG against S1/S2 protein	~35 min	97.56% (40/41) ≥ 15 days post-symptom onset/99.3% (1082/1090)
Abbott Laboratories	SARS-CoV-2 IgG Assay	Chemiluminescent microparticle immunoassay	IgG only against N protein	~30 min	100% (88/88) ≥ 14 days post-symptom onset/99.63% (1066/1070)
Bio-Rad Laboratories	Platelia SARS-CoV-2 Total Ab assay	ELISA	Total antibody against N protein	~100 min	92.2% (47/51)/99.6% (684/687)
Roche	Elecsys Anti-SARS-CoV-2	Electrochemiluminescence immunoassay	Total antibody against N protein	~18 min	100% (29/29) ≥ 14 days post-symptom onset/99.81% (5262/5272)
Siemens Healthcare	Atellica IM SARS-CoV-2 Total (COV2T)	Chemiluminescent microparticle immunoassay	Total antibody against RBD of S1 protein	~10 min	100% (42/42) 14 days post-symptom onset/99.8% (1089/1091)

ANNEXE 4 : circulaire N°63 du 5 Août 2020 du Ministère de la Santé (pages 1 et 2)(74)

ROYAUME DU MAROC
Ministère de la Santé
DIRECTION DE L'EPIDEMIOLOGIE
ET DE LUTTE CONTRE LES MALADIES



المملكة المغربية
+٠٣١٨٤+ | ١٤٧٠٤٥
وزارة الصحة
+٠٤٤٤٠٠+ | +٨٣٥٤
مديرية علم الأوبئة و صحابة الأمراض
+٤٤٠٠% | +٥١٤٤٤+ | ١٤٠٤٠٤٤٤

Prise en charge des cas de Covid-19

Mise à jour du 03/08/2020

1. Prise en charge du cas possible

Voies de détection d'un cas possible de Covid-19 :

- Consultation au niveau d'une structure de soins publique ou privée ;
- Suivi des contacts ;
- Activités de dépistage ;
- Appel téléphonique : Allo veille, allo 141 et allo 300.

Lieu de prise en charge : De règle, au niveau de structures hospitalières, conventionnelles ou non conventionnelles.

Démarrage de la prise en charge : En présence d'un tableau radio-clinique très évocateur de Covid-19, démarrer le traitement sans délai et après bilan pré-thérapeutique, puis faire un prélèvement pour confirmation virologique.

2. Prise en charge du cas confirmé ou probable

- Les cas **symptomatiques** sont impérativement pris en charge en milieu hospitalier et mis sous traitement de 1^{ère} intention pendant une durée de **10 jours** ;
- Les cas **asymptomatiques** sont mis sous traitement de 1^{ère} intention pendant une durée de **7 jours** :
 - Les cas sont pris en charge à **domicile** (voir annexe) en l'absence de facteurs de risque, avec un isolement durant les 7 jours de traitement et 7 jours supplémentaires, **soit un total de 14 jours d'isolement** ;
 - Un suivi médical rigoureux de l'état de santé doit être assuré, afin de détecter précocement tout signe d'aggravation ou effet indésirable du traitement.

3. Critères de guérison

- **Pour un cas asymptomatique** : La guérison ne peut être évoquée qu'à l'issue des 07 jours de traitement, sans l'apparition du moindre symptôme évocateur de la maladie ;
- **Pour un cas symptomatique (probable ou confirmé)** : La guérison est déclarée à l'issue de la période de traitement de 10 jours, en plus des deux critères suivants :
 - Nette amélioration clinique, avec une apyrexie pendant 3 jours consécutifs ;
 - Normalisation du bilan biologique

4. Prise en charge en post-guérison

- Le patient doit compléter le confinement pour une durée de 14 jours après le début de la prise en charge (les 14 jours incluent la période d'hospitalisation) ;
- Durant le confinement, le patient guéri doit observer scrupuleusement les mesures suivantes :
 - Isolement à domicile dans une chambre individuelle ;
 - Port d'un masque chirurgical en présence d'une tierce personne ; *٤/٥*

71, Avenue Ibn Sina Agdal - Rabat - Tél.: +212 537 67 12 71 - Fax : +212 537 67 12 98



- Respect des règles d'hygiène individuelle, y compris la désinfection des selles à l'eau de javel au moins 10 minutes avant nettoyage ;
- A l'apparition de tout signe, se présenter à la structure de prise en charge la plus proche tout en spécifiant que le patient a été COVID-19 positif.

5. Suivi de pharmacovigilance

Tout patient bénéficiant d'un traitement de première ou de deuxième intention doit bénéficier d'une surveillance active des effets indésirables, selon les normes de pharmacovigilance, en utilisant la fiche en vigueur.

6. Protocole thérapeutique

- **Traitement de première intention :**

Chloroquine 500 mg X 2/j, pendant 7 jours Ou Sulfate d'hydroxychloroquine 200 X3/j pendant 7 jours	En association avec l'Azithromycine 500 mg à J1, puis 250 mg /jour de J2 à J7
---	---

- **Traitement de deuxième intention :**
Association Lopinavir/Ritonavir : 400mg X 2 par jour pendant 7jours.
- **Antibiothérapie :** Non systématique, indiquée si surinfection bactérienne.

Amoxicilline + acide clavulanique, 3g par jour Ou Moxifloxacine 400mg/j en une seule Ou Levofloxacine 500 mg/j en une seule prise

- **Nébulisation :** à utiliser si besoin, avec les précautions nécessaires en matière de prévention des infections liées aux soins.
- **Héparine à bas poids moléculaire,** si alitement.

Avant le démarrage du traitement, il est nécessaire de réaliser un bilan minimum qui comprend les examens suivants : NFS, CRP, Glycémie, urée, créatininémie, transaminases, ECG, Radiographie thoracique.

7. Critères de transfert en réanimation

Le transfert en réanimation se fait devant l'un des critères suivants :

- Troubles neurologiques : les troubles de la conscience ;
- Polypnée : FR> ou égale à 30 cycles par min ;
- TA systolique <90 mmHg ;
- Fréquence cardiaque : >120 bat/min ;
- Saturation en oxygène <92 % sous 4l/min d'O2.

NB : Des mises à jour de ce protocole peuvent avoir lieu, selon le contexte épidémique et l'évolution des connaissances sur la maladie. Elles feront l'objet de notes spécifiques, le cas échéant.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Lu H, Stratton CW, Tang YW. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. *J Med Virol.* 2020;92(4):401–2.
2. Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet [Internet].* 2020;395(10223):507–13. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7)
3. Yu P, Zhu J, Zhang Z, Han Y. A familial cluster of infection associated with the 2019 novel coronavirus indicating possible person-to-person transmission during the incubation period. *J Infect Dis.* 2020;221(11):1757–61.
4. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2020;323(11):1061–9.
5. Rothe C, Schunk M, Sothmann P, Bretzel G, Froeschl G, Wallrauch C, et al. Transmission of 2019-nCoV Infection from an Asymptomatic Contact in Germany. *N Engl J Med.* 2020;382(10):970–1.
6. WHO. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report – 43 [Internet]. Vol. 2019, WHO Bulletin. 2020. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
7. WHO. Coronavirus Disease 2019 Situation Report 51 - 11th March 2020 [Internet]. Vol. 2019, WHO Bulletin. 2020. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
8. World Health Organization (WHO). Coronavirus Disease 2019 Situation Report 52 12th March. *World Heal Organ [Internet].* 2020;2019(August):2633. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
9. World Health Organization (WHO). Coronavirus disease 2019 (COVID-19)

- Situation Report – 71. Vol. 2019, WHO Bulletin. 2020.
10. Vabret A, Dina J, Brison E, Brouard J, Freymuth F. Coronavirus humains (HCoV). *Pathol Biol.* 2009;57(2):149–60.
 11. Liu DX, Liang JQ, Fung TS. Human Coronavirus-229E, -OC43, -NL63, and -HKU1 (Coronaviridae). *Encycl Virol.* 2021;(January):428–40.
 12. Park M, Thwaites RS, Openshaw PJM. COVID-19: Lessons from SARS and MERS. *Eur J Immunol.* 2020;50(3):308–11.
 13. Song HD, Tu CC, Zhang GW, Wang SY, Zheng K, Lei LC, et al. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(7):2430–5.
 14. Hasöksüz M, Kiliç S, Saraç F. Coronaviruses and sars-cov-2. *Turkish J Med Sci.* 2020;50(SI-1):549–56.
 15. World Health Organization. Mers Situation Update May 2021 [Internet]. 2021. Available from: <http://www.emro.who.int/health-topics/mers-cov/mers-outbreaks.html>
 16. Ramanathan K, Antognini D, Combes A, Paden M, Zakhary B, Ogino M, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020;2020(January):19–21.
 17. Sardon J-P. De la longue histoire des épidémies au Covid-19. *Les Anal Popul Avenir.* 2020;N° 26(8):1.
 18. Singh R, Kang A, Luo X, Jeyanathan M, Gillgrass A, Afkhami S, et al. COVID-19: Current knowledge in clinical features, immunological responses, and vaccine development. *FASEB J.* 2021;35(3):1–23.
 19. Direction de l'épidémiologie, Ministère de la Santé du Maroc. Bulletin Quotidien COVID-19 du 02 Juillet 2021. 2021.

20. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses – a statement of the Coronavirus Study Group. *bioRxiv*. 2020;
21. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2021;19(3):141–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
22. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727–33.
23. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol*. 2020;92(4):418–23.
24. Hasoksuz M, Sreevatsan S, Cho K, Hoet AE, Saif LJ. Molecular analysis of the S1 subunit of the spike glycoprotein of respiratory and enteric bovine coronavirus isolates. *Virus Res*. 2002;82(January).
25. Siddell S, Wege H, ter Meulen V. The structure and replication of coronaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1982;99:131–63.
26. Mohamed T, El-aziz A, Stockand JD. Recent progress and challenges in drug development against COVID-19 coronavirus (SARS-CoV-2) - an update on the status. *Infect Genet Evol J*. 2020;83(April).
27. Khailany RA, Safdar M, Ozaslan M. Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 Rozhgar. *Gene Reports*. 2020;19(January):1–6.
28. Yang D, Leibowitz JL. The structure and functions of coronavirus genomic 3' and 5' ends. *Virus Res*. 2015;206(February):120–33.
29. Ellis P, Somogyvári F, Virok DP, Nosedá M, Mclean GR. Decoding Covid-19 with the SARS-CoV-2 Genome. *Bioinformatics*. 2021;1–12.
30. Meirson T, Bomze D, Markel G. Structural basis of SARS-CoV-2 spike protein

- induced by ACE2. *Bioinformatics*. 2021;37(7):929–36.
31. Mahmoud M et al. Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *OptionBio*. 2020;619–620(Juillet-Août).
 32. Hachim A, Kavian N, Cohen CA, Chin AWH, Chu DKW, Mok CKP, et al. ORF8 and ORF3b antibodies are accurate serological markers of early and late SARS-CoV-2 infection. *Nat Immunol* [Internet]. 2020;21(10):1293–301. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41590-020-0773-7>
 33. Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Emergence, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *J Adv Res* [Internet]. 2020;24:91–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.03.005>
 34. Rabenau HF, Cinatl J, Morgenstern B, Bauer G, Preiser W, Doerr HW. Stability and inactivation of SARS coronavirus. *Med Microbiol Immunol*. 2005;194(1–2):1–6.
 35. Eggers M, Eickmann M, Zorn J. Rapid and Effective Virucidal Activity of Povidone-Iodine Products Against Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) and Modified Vaccinia Virus Ankara (MVA). *Infect Dis Ther*. 2015;4(4):491–501.
 36. Omidbakhsh N, Sattar SA. Broad-spectrum microbicidal activity, toxicologic assessment, and materials compatibility of a new generation of accelerated hydrogen peroxide-based environmental surface disinfectant. *Am J Infect Control*. 2006;34(5):251–7.
 37. Sattar SA, Springthorpe VS, Karim Y, Loro P. Chemical disinfection of non-porous inanimate surfaces experimentally contaminated with four human pathogenic viruses. *Epidemiol Infect*. 1989;102(3):493–505.
 38. Inactivation of coronaviruses by heat. *J Hosp Infect*. 2020;105:348–9.
 39. Lau SKP, Luk HKH, Wong ACP, Li KSM, Zhu L, He Z, et al. Possible Bat Origin

- of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Emerg Infect Dis.* 2020;26(7):1542–7.
40. Zhang YZ, Holmes EC. A Genomic Perspective on the Origin and Emergence of SARS-CoV-2. *Cell.* 2020;181(2):223–7.
41. Ramanathan K, Antognini D, Combes A, Paden M, Zakhary B, Ogino M, et al. Transmission of SARS and MERS coronaviruses and influenza virus in healthcare settings: the possible role of dry surface contamination. *J Hosp Infect.* 2020;92(January):235–50.
42. Dowell SF, Simmerman JM, Erdman DD, Wu JSJ, Chaovavanich A, Javadi M, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus on hospital surfaces. *Clin Infect Dis.* 2004;39(5):652–7.
43. Morawska L, Johnson GR, Ristovski ZD, Hargreaves M, Mengersen K, Corbett S, et al. Size distribution and sites of origin of droplets expelled from the human respiratory tract during expiratory activities. *J Aerosol Sci.* 2009;40(3):256–69.
44. Aydogdu MO, Altun E, Chung E, Ren G, Homer-Vanniasinkam S, Chen B, et al. Surface interactions and viability of coronaviruses: Surface interactions and viability of coronaviruses. *J R Soc Interface.* 2021;18(174).
45. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes among 5700 Patients Hospitalized with COVID-19 in the New York City Area. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2020;323(20):2052–9.
46. Niedzwiedz CL, O'Donnell CA, Jani BD, Demou E, Ho FK, Celis-Morales C, et al. Ethnic and socioeconomic differences in SARS-CoV-2 infection: Prospective cohort study using UK Biobank. *BMC Med.* 2020;18(1):1–14.
47. Liu PP, Blet A, Smyth D, Li H. The Science Underlying COVID-19: Implications

- for the Cardiovascular System. *Circ AHA*. 2020;142:68–78.
48. Richier Q, Bonny V, Maillard A, Mousseaux C, Plaçais L. COVID-19 :
physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. *La Rev Médecine Interne*.
2020;41:375–89.
49. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral
shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020;26(5):672–5.
50. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al.
Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*.
2020;581(7809):465–9.
51. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology,
Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19):
A Review. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2020;324(8):782–93.
52. Hu Z, Song C, Xu C, Jin G, Chen Y, Xu X, et al. Clinical characteristics of 24
asymptomatic infections with COVID- 19. *Sci China Life Sci*. 2020;63(5):706–11.
53. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical Characteristics of
Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708–20.
54. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients
infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*.
2020;395(10223):497–506.
55. Desvaux É, Faucher J-F. Covid-19 : aspects cliniques et principaux éléments de
prise en charge. *Rev Francoph des Lab*. 2020;2020(526):40–7.
56. Xu XW, Wu XX, Jiang XG, Xu KJ, Ying LJ, Ma CL, et al. Clinical findings in a
group of patients infected with the 2019 novel coronavirus (SARS-Cov-2) outside of
Wuhan, China: Retrospective case series. *BMJ*. 2020;368(January):1–7.
57. Wunsch H. Mechanical ventilation in COVID-19: Interpreting the current

- epidemiology. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;202(1):1–4.
58. Carfi A, Bernabei R, Landi F. Persistent Symptoms in Patients After Acute COVID-19. *JAMA*. 2020;324(6):603–5.
59. Ravi N, Cortade DL, Ng E, Wang SX. Diagnostics for SARS-CoV-2 detection: A comprehensive review of the FDA-EUA COVID-19 testing landscape. *Biosens Bioelectron* [Internet]. 2020;165:112454. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112454>
60. Chu DKW, Pan Y, Cheng SMS, Hui KPY, Krishnan P, Liu Y, et al. Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clin Chem*. 2020;66(4):549–55.
61. Chan JFW, Yip CCY, To KKW, Tang THC, Wong SCY, Leung KH, et al. Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/Hel real-time reverse transcription-PCR assay validated in vitro and with clinical specimens. *J Clin Microbiol*. 2020;58(5):1–10.
62. Feng W, Newbigging AM, Le C, Pang B, Peng H, Cao Y, et al. Molecular Diagnosis of COVID-19: Challenges and Research Needs. *Anal Chem*. 2020;92(15):10196–209.
63. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2020;323(22):2249–51.
64. Société Française de Microbiologie. Avis du 25 septembre 2020 de la Société Française de Microbiologie (SFM) relatif à l'interprétation de la valeur de Ct (estimation de la charge virale) obtenue en cas de RT-PCR SARS-CoV-2 positive sur les prélèvements cliniques réalisés à des fins d [Internet]. 2021. Available from: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2021/01/Avis-SFM-valeur-Ct-excrétion-virale--Version-def-14012021_V4.pdf

65. Santé publique Ontario. Un aperçu des valeurs de cycle seuil et de leur rôle dans l'interprétation des résultats des tests de dépistage du SARS-CoV-2 par PCR en temps réel Contexte [Internet]. 2020. Available from: <https://www.publichealthontario.ca/-/media/documents/ncov/main/2020/09/cycle-threshold-values-sars-cov2-pcr.pdf?la=fr>
66. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2000;28(12). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10871386/>
67. Yu L, Wu S, Hao X, Dong X, Mao L, Pelechano V, et al. Rapid Detection of COVID-19 Coronavirus Using a Reverse Transcriptional Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) Diagnostic Platform. *Clin Chem*. 2020;66(7):975–7.
68. Baek YH, Um J, Antigua KJC, Park JH, Kim Y, Oh S, et al. Development of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification as a rapid early-detection method for novel SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):998–1007.
69. Haute Autorité de Santé HAS. Revue rapide sur les tests de détection antigénique du virus SARS-CoV-2 [Internet]. HAS. 2020. Available from: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3213483/fr/revue-rapide-sur-les-tests-de-detection-antigenique-du-virus-sars-cov-2
70. Alkhairy OK, Memish ZA, Hajeer AH. Serologic aspects of COVID-19: Recommendations for use in the clinical setting. *Travel Med Infect Dis*. 2021;46(January).
71. Cinquanta L, Fontana DE, Bizzaro N. Chemiluminescent immunoassay technology: what does it change in autoantibody detection? *Autoimmun Highlights*. 2017;8(1).
72. Kontou PI, Braliou GG, Dimou NL, Nikolopoulos G, Bagos PG. Antibody tests in detecting SARS-CoV-2 infection: A meta-analysis. *Diagnostics*. 2020;10(5).

73. OMS/UNICEF. Prise en charge clinique de la COVID-19. 2020.
74. Ministère de la Santé du Maroc. Mise à jour du protocole de prise en charge des cas Covid 19.pdf. MAROC;
75. Wang X, Cao R, Zhang H, Liu J, Xu M, Hu H, et al. The anti-influenza virus drug, arbidol is an efficient inhibitor of SARS-CoV-2 in vitro. *Cell Discov.* 2020;6(1):4–8.
76. Zhu Z, Lu Z, Xu T, Chen C, Yang G, Zha T. Arbidol monotherapy is superior to lopinavir/ritonavir in treating COVID-19. *J Infect.* 2020;81:19–22.
77. Kawase M, Shirato K, van der Hoek L, Taguchi F, Matsuyama S. Simultaneous Treatment of Human Bronchial Epithelial Cells with Serine and Cysteine Protease Inhibitors Prevents Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Entry. *J Virol.* 2012;86(12):6537–45.
78. Zhou Y, Vedantham P, Lu K, Agudelo J, Carrion R, Nunneley JW, et al. Protease inhibitors targeting coronavirus and filovirus entry. *Antiviral Res.* 2015;116:76–84.
79. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res.* 2020;30(3):269–71.
80. Yao X, Ye F, Zhang M, Cui C, Huang B, Niu P, et al. In Vitro Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Main point: Hydroxychloroquine was found to be more potent than chloroquine at inhibiting SARS-CoV-2 in vit. *Clin Infect Dis.* 2020;2:1–25.
81. Martin WR, Cheng F. Repurposing of FDA-Approved Toremifene to Treat COVID-19 by Blocking the Spike Glycoprotein and NSP14 of SARS-CoV-2. *J Proteome Res.* 2020;19(11):4670–7.

82. Ho TY, Wu SL, Chen JC, Li CC, Hsiang CY. Emodin blocks the SARS coronavirus spike protein and angiotensin-converting enzyme 2 interaction. *Antiviral Res.* 2007;74(2):92–101.
83. Monteil V, Kwon H, Prado P, Hagelkrüys A, Wimmer RA, Stahl M, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2. *Cell.* 2020;181(4):905-913.e7.
84. Xia S, Liu M, Wang C, Xu W, Lan Q, Feng S, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Res.* 2020;30(4):343–55.
85. Caly L, Druce JD, Catton MG, Jans DA, Wagsta KM. The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Res.* 2020;178(January):104787.
86. Tahir ul Qamar M, Alqahtani SM, Alamri MA, Chen LL. Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *J Pharm Anal [Internet].* 2020;10(4):313–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.009>
87. Cai Q, Yang M, Liu D, Chen J, Shu D, Xia J, et al. Experimental Treatment with Favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study. *Engineering [Internet].* 2020;6:1192–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32346491/>
88. Horby RCGP, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, Linsell L, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2021;384(8):693–704.
89. Xu X, Han M, Li T, Sun W, Wang D, Fu B, et al. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117(20):10970–5.

90. Diurno F, Numis FG, Porta G, Cirillo F, Maddaluno S, Ragozzino A, et al. Eculizumab treatment in patients with COVID-19: Preliminary results from real life ASL Napoli 2 Nord experience. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020;24(7):4040–7.
91. Mantlo E, Bukreyeva N, Maruyama J, Paessler S. Antiviral activities of type I interferons to SARS-CoV-2 infection. *Antiviral Res [Internet].* 2020;179. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32360182/>
92. Sallard E, Lescure F, Yazdanpanah Y, Mentre F, Pei N. Type 1 interferons as a potential treatment against COVID-19. *Antiviral Res [Internet].* 2020;178. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32275914/>
93. Ramanathan K, Antognini D, Combes A, Paden M, Zakhary B, Ogino M, et al. Type I and Type III Interferons – Induction, Signaling, Evasion, and Application to Combat COVID-19. *Cell Host Microbe.* 2020;27(6):870–8.
94. Duan K, Liu B, Li C, Zhang H, Yu T, Qu J, et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117(17):9490–6.
95. Dai L, Gao GF. Viral targets for vaccines against COVID-19. *Nat Rev Immunol [Internet].* 2021;21(2):73–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-00480-0>
96. Chen J, Lu H, Melino G, Boccia S, Piacentini M, Ricciardi W, et al. COVID-19 infection: the China and Italy perspectives. *Cell Death Dis [Internet].* 2020;11(6). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41419-020-2603-0>
97. Prezioso C, Marcocci ME, Palamara AT, De Chiara G, Pietropaolo V. The “Three Italy” of the COVID-19 epidemic and the possible involvement of SARS-CoV-2 in triggering complications other than pneumonia. *J Neurovirol.* 2020;26(3):311–23.
98. Jaillon S, Berthenet K, Garlanda C. Sexual Dimorphism in Innate Immunity. *Clin*

- Rev Allergy Immunol. 2019;56(3):308–21.
99. Yu Zhao, Zixian Zhao, Yujia Wang, Yueqing Zhou, Yu Ma WZ. Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the receptor of SARS-CoV-2. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020;202(5).
100. Goren A, Vaño-Galván S, Wambier CG, McCoy J, Gomez-Zubiaur A, Moreno-Arrones OM, et al. A preliminary observation: Male pattern hair loss among hospitalized COVID-19 patients in Spain – A potential clue to the role of androgens in COVID-19 severity. *J Cosmet Dermatol.* 2020;19(7):1545–7.
101. Fu L, Wang B, Yuan T, Chen X, Ao Y. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China: A systematic review and meta-analysis. *J Infect* [Internet]. 2020;80(January):656–65. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163445320301705%0A>
102. Xiao AT, Tong YX, Gao C, Zhu L, Zhang YJ, Zhang S. Dynamic profile of RT-PCR findings from 301 COVID-19 patients in Wuhan, China: A descriptive study. *J Clin Virol.* 2020;127(March):0–6.
103. Aljishi J, Al-Tawfiq J. Intermittent viral shedding in respiratory samples of patients with SARS-CoV-2: observational analysis with infection control implications. *J Hosp Infect.* 2020;
104. Ministère de la Santé du Maroc. Digitalisation de la fiche d'investigation du COVID-19/ Nouveau circuit de l'information. Circulaire n°027 du 13 Avril 2020 [Internet]. Available from: <http://www.covidmaroc.ma/Documents/2020/coronavirus/PS/CIR-Dégitalisation de la fiche d'investigation.pdf>