République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BOUCHACHIA HOUARIA

BELBAHI ILHAM

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Génétique fondamentale et Appliquée

THEME

Méthodes de détection de la COVID-19 .

DEVANT LE *JURY

Présidente	**MEDDAH Dalila**	**M.C.B**	**Université de Mostaganem, Algérie**
Examinatrice	**DAHMANI Chahinez Amira**	**M.C.B**	**Université de Mostaganem, Algérie**
Rapporteur	**CHIBANI Abdelwaheb**	**Pr.**	**Université de Mostaganem, Algérie**

Année universitaire : 2021-2022

Dédicace

Du profond de mon cœur , je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers :

A mes très chers parents pour leur l'amour, leur conseils, leur soutien , leur encouragements tout au long de mes études. Ce travail est le fruit de tous vos sacrifices .

A mes frères et mes sœur .

A mon mari et mes deux familles et a toutes mes amies .

Houaria .

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents, je ne pourrai jamais assez-vous dire merci pour les conseils, le soutien, les encouragements et pour les prières qui m'ont accompagnés tout au long de mes études .

A mes chères sœurs et mon cher frère .

A tous les membres de ma famille .

A toutes mes amies .

Ilham.

Remerciements

Au terme de ce modeste travail nous tenons tout d'abord remercier le bon dieu le tout puissant de nous avoir accordé le courage , la volonté et surtout la santé pour réaliser ce travail

Nos remerciements les plus profond et les plus sincères pour nos parents , grâce a leurs efforts leurs sacrifices et leurs prières que nous somme arrive là où on est aujourd'hui .

On tient le remercier a Mr.Chibani de nous avoir encadrés , pour ses précieux conseils , ses orientations et le temps qu'il nous a consacré afin de réaliser ce travail .

Enfin, un grand merci pour toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de cette recherche nous espérant qu'il sera d'un apport profitable pour les futures étudiants .

Table des matières

Dédicace
Remerciement
Liste des Tableaux et des figures
Liste des abréviation

Introduction générale : 1

Chapitre I : Généralités sur la maladie de COVID-19 3

1.Généralité : 4
2.Définition : 4
3.Historique: 5
4.Origine : 6
5.structure : 6
6.Classification : 7

Chapitre 2 : génome de COVID-19 9

1.généralité : 10
2.Organisation du génome : 10
3. La similarité et les différences entre le SARS-CoV-2 et les autres coronavirus : 11
4.Symptômes : 12
5.Mode de transmission du SARS-CoV-2 : 12
6. Mécanismes cellulaire sous-jacents à l'entrée du SRAS-CoV-2 dans l'hôte humain :13
7. Cycle virale et réplication de SARS-CoV-2 : 14

7.1 Phase d'attachement : 14
7.2 Phase de fusion : 14
7.3 L'entrée dans la cellule et réplication : 15

Chapitre 3 : les différents variants , COVID-19 en Algérie. 16

1.Généralité : 17
2.Les Variants préoccupants de coronavirus : 17

2.1. Le variant Anglais (Alpha selon l'OMS): 17
2.2. Variant Sud-Africain (Beta selon l'OMS) 19
2.3. Variant Brésilien (Gamma selon l'OMS) 20
2.4. Le variant Indien (Delta selon l'OMS) 21
2.5. Le variant Omicron (B.1.1.529) : 22

3. SARS-CoV-2 en Algérie : 23

3.1. Epidémiologie du SRAS-CoV-2 en Algérie : 23
3.2 .Analyses du génome : 24
3.4. Diagnostic de COVID-19 en Algérie : 27
3.5. Traitement de COVID-19 en Algérie : 27
3.6. La vaccination COVID-19 en Algérie : 27

chapitre 4 : méthodes de détection de COVID-19 28

Le test RT-PCR 29
1.Introduction : 29
2. Matériel et méthode : 29

2.1. Prélèvement et conservation : 29
2.2. Extraction de l'ARN viral : 29
2.3. Pré-amplification (Mix-PCR) : 31

2.4. Amplification : 31
3. Résultats et discussion : 32
Le test sérologique : 33
1.Introduction : 33
2.Matériels et méthode 33
2.1. Prélèvement 33
2.2. Traitement d'échantillon 33
3.Résultats et discussion 34
Le test antigénique : 34
1. Introduction : 34
2.1. Prélèvement 35
2.2. Traitement de prélèvement : 35
3. Résultat et discussion 35
Conclusion : 36
Conclusion générale 37
Références bibliographique : 39
Résumé

Listes des tableaux :

Chapitre 1
Tableau 1. Taxonomie des Coronavirus……8
Chapitre 3
Tableau2. Les variants préoccupant de SARS-CoV-2…….23

Liste des figures :

Chapitre 1

Figure 1. Le virion de coronavirus sous le microscope électronique……..4

Figure 2.la structure de SRAS-CoV-2……..7

Chapitre 2

Figure3. Organisation du génome du SRAS-CoV-2 déterminée a Wuhan…….…10

Chapitre 3

Figure 4. Propagation du variant Alpha dans le monde……...18

Figure 5. Propagation du variant Beta dans le monde……..20

Figure 6. Propagation du variant Gamma dans le monde……21

Figure 7. Propagation du variant Delta dans le monde……22

Figure 8. Les substitutions synonymes et non synonymes le long de chacun des huit gènes analysés ……26

Chapitre 4

Figure 9. Hotte à flux laminaire……..30

Figure 10. Tampons lyse et lavage –QIAGEN……30

Figure 11. Kits Invitrogen et Molecision…….31

Figure 12. Thermocycleur en temps réel (Rotor gene Q)……32

Figure 13. Les trois phases de la réaction RT-PCR…….32

Figure 14. Résultat de centrifugation du sang……..33

Figure 15. Traitement d'échantillon avec automate mindray……..34

Figure 16. Test antigénique ……35

Figure 17. Résultats positif et négatif d'un test antigénique……...35

Liste des abréviations :

ACE2 :enzyme de conversion de l'angiotensine 2

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

CDC : Centers for disease control and prevention

COVID-19 : Corona Virus Disease (maladie de coronavirus 2019).

Ct : Cycle threshold (cycle seuil).

EPI : équipement de protection individuelle.

GISAID : Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data .

IgG : Immunoglobuline de type G

IgM : Immunoglobuline de type M.

IPA : Institut pasteur d'alger.

MERS-CoV : Coronavirus du Syndrome respiratoire du Moyen-Orient.

nCoV-2019 : Novel Coronavirus 2019.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

ORF : Open reading frame« cadres de lecture ouverts ».

PCR : Réaction en chaîne par polymérase.

R0 : nombre de reproduction de base .

RBD : domaine de liaison au récepteur.

RdRp : ARN polymérase ARN dépendante.

RT-PCR : Reverse transcriptase polymerase chain reaction.

SARS-CoV : Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère.

SARS-CoV-2 : Coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère.

SNP : Polymorphisme nucléotidique .

VOC : variant préoccupant.

Résumé :

Résumé

Cette étude vise à déterminer les différents méthodes de détection du COVID-19 en Algérie , l'étude a montré que grâce a le test de biologie moléculaire RT-PCR il est possible de poser un diagnostic assez tôt et fiable pour la recherche de l'ARN viral dans un prélèvement nasopharyngé, ainsi que avec le même type de prélèvement le test antigénique permet de détecter la présence de protéine associées au virus avec une utilisation facile et rapide , et le test sérologique recherche la présence d'anticorps dirigés contre le virus donc il montre la réponse de l'organisme face au virus avec un prélèvement sanguin .

Mots clés : COVID-19, RT-PCR, Virus, antigénique , sérologique .

Abstract

This study aims to determine the different methods of detection of COVID-19 in Algeria, the study has shown that thanks to the molecular biology test RT-PCR it is possible to make a diagnosis early enough and reliable for the search for Viral RNA in a nasopharyngeal sample, as well as with the same type of sample, the antigen test makes it possible to detect the presence of proteins associated with the virus with easy and rapid use, and the serological test searches for the presence of antibodies directed against the virus therefore it shows the body's response to the virus with a blood sample.

Keywords: COVID-19, RT-PCR, Virus, antigenic, serological.

ملخص

تهدف هذه الدراسة الى الطرق المختلفة للكشف عن فيروس كورونا في الجزائر ، وقد أظهرت الدراسة أنه بفضل اختبار بي سي ار ، من الممكن إجراء تشخيص مبكرًا وموثوقًا به للبحث عن الحمض النووي الفيروسي في عينة البلعوم الأنفي ، وكذلك مع نفس النوع من العينة ، يتيح اختبار المستضد الكشف عن وجود البروتينات المصاحبة للفيروس مع سهولة وسرعة الاستخدام ، ويبحث الاختبار المصلي عن وجود الأجسام المضادة الموجهة ضد الفيروس لذلك يظهر استجابة الجسم للفيروس بعينة من الدم.

كلمات مفتاحية

كورونا.، فيروس ، مستضد ، مصلي اختبار بي سي ار

Introduction générale :

L'humanité a connu à travers le temps des périodes de propagation des épidémies mondiales En décembre 2019 une nouvelle maladie respiratoire d'une source inconnue a émergé dans la ville de Wuhan (province de Hubei , chine) **(Ciotti et *al*., 2020).**

Le 9 janvier 2020, la découverte d'un nouveau coronavirus et la rapidité de la transmission interhumaine a accéléré une pandémie de pneumonies quelle a été officiellement annoncée par l'organisation mondiale de la santé (OMS) **(Yang et al., 2020)**. Il connait une augmentation rapide du nombre de patients infectés et un taux élevé de mortalité , cette vitesse de propagation a conduit les scientifiques partout dans le monde à mener de nombreuses recherches pour mieux connaitre le virus .

Ce virus appelé SARS-CoV-2 ou COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) est différent du SARS-Cov responsable de l'épidémie de SRAS en 2003 et également différent du virus MERS-CoV responsable d'une épidémie évoluant depuis 2012 au Moyen-Orient . La COVID-19 se manifeste par des symptômes cliniques variables, allant de symptômes légers au syndrome de détresse respiratoire aiguë. Ces manifestations hétérogènes dépendent de l'âge, sexe, et des conditions de santé du patient **(Bulut et Kato, 2020)**

SARS-COV-2 est un virus a ARN, donc il possède un taux de mutations très élevé, lors de sa réplication il subit des modifications, qui donnent lieu à des variant parfois mieux adapté à l'environnement que le virus initiale. Certaines mutations peuvent entrainer des changements dans les caractéristique du virus comme une altération de la transmission ou de sa gravité (se propage plus rapidement et provoque une forme plus grave de la maladie).

Plusieurs techniques sont utilisées pour le diagnostic de COVID-19; par la détection du génome viral, les protéines ou les complexes immunitaires **(Berkani *et al*., 2020).** Parmi les tests utilisés pour la détection de SARS-cov2, les tests sérologiques, les tests moléculaires ou par test immunofluorescence direct **(Kannan *et al*., 2020).**

Au début de la pandémie n'existe aucun médicament antiviral ou vaccin approuvé disponible pour traiter les personnes contaminées, donc ils ont basé sur le traitement des symptômes, en coordonnée par l'OMS l'équipe d'experts de disciplines et d'expertises diverses a travaillé pour développer les vaccins nécessaires contre le COVID-19 **(Shereen *et al.*, 2020).**

L'Algérie comme tous les pays elle est contaminée et selon l'OMS aujourd'hui le nombre des cas est plus de 260 000 , dont 6800 décès, le ministère de la santé a appliqué certain mesures de prévention dans le cadre de la gestion de la crise sanitaire provoquée par l'épidémie du COVID-19 . La wilaya de Mostaganem a vu une crise sanitaire , et l'objectif de ce travail est de préciser les techniques utilisées pour la détection de virus .

Ce travail est devisé au 4 chapitres :

- Chapitre 1 : généralité sur la maladie de COVID-19.
- Chapitre 2 : génome de COVID-19 .
- Chapitre 3 : les différents variantes, COVID-19 en Algérie .
- Chapitre 4 : méthodes de détection de COVID-19

Chapitre I :

Généralités sur la maladie de COVID-19

1.Généralité :

La maladie de coronavirus 2019 est une maladie infectieuse de type zoonose viral causée par la souche de coronavirus SRAS-Cov-2. Les symptômes les plus fréquents de cette maladie sont la fièvre, le toux, la fatigue, dont les formes les plus graves l'apparition d'un syndrome de détresse respiratoire aigue, qui peut entrainer la mort, notamment chez les personnes les plus fragiles du fait exacerbé du système immunitaire inné (choc cytokinique), une perte brutale de l'odorat (anosmie) associé ou non à la perte du gout, sont des manifestations relativement fréquentes et parfois révélatrices de l'infection par SRAS-Cov-2 **(Yousef *et al*,. 2020).**

2.Définition :

Les virus sont constitués des acides nucléique et protéines comme les celles vivants mais ils ne peuvent ni métaboliser, ni produire ou utiliser de l'énergie, ni croître, ni se multiplier. Ainsi, les virus ne contiennent pas les deux types d'acide nucléique ; soit à ARN simple brin à polarité positive ou négative soit à ADN simple brin. L'un des plus petits virus connu mesure 10 nanomètres et son génome ne comporte qu'un seul gène et les plus grands virus connu, mesure 400 nanomètres et son génome compte 1200 gènes, soit plus que certaines bactéries. **(Jankowski, 2020) Fig.1**

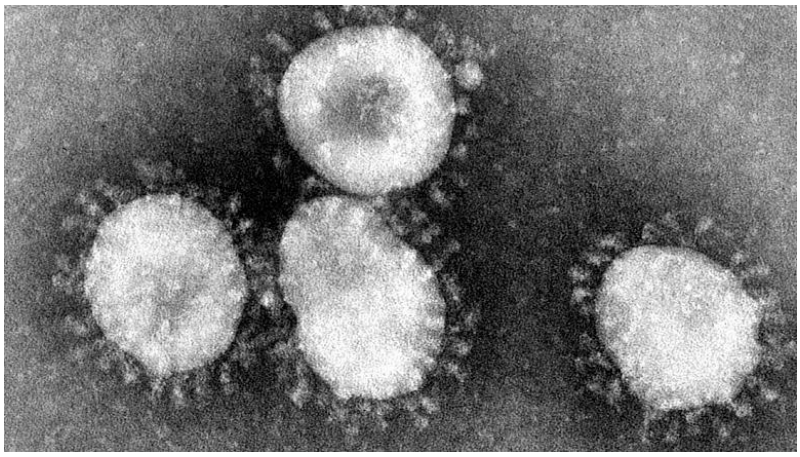

Figure 1. Le virion de coronavirus sous le microscope électronique (Julien, 2020).

3.Historique:

Le 26 décembre 2019, un homme de 41 ans a été admis à l'hôpital central de Wuhan.

Après 6 jours, Aucun antécédent d'hépatite ou de tuberculose ou diabète et signalez fièvre, oppression thoracique, toux sèche, douleur et faiblesse pendant 1 semaine à la présentation, le patient a été retrouvé en train de travailler dans un marché de fruits de mer intérieur local **(Wu *et al*.,2020) .**

Le 31 décembre 2019, le bureau de l'OMS en Chine a été informé que des cas de pneumonie inexpliqués découverts à Wuhan province du Hubei, Chine. Du 31 décembre 2019 au 3janvier 2020 une pneumonie d'étiologie inconnue a été signalée par l'OMS. Aucun agent pathogène n'a été trouvé au cours de la période de déclaration. Les 11 et 12 janvier 2020, l'OMS a reçu une détails supplémentaires indiquant que l'épidémie est liée à l'un des marchés fruits de mer de Wuhan **(OMS, 2020).**

Le 7 janvier 2020, un nouveau type de coronavirus a été isolé et identifié en Chine pour que d'autres pays puissent développer des kits de diagnostic spécifiques **(Rojian *et al*., 2020).**

Le 13 janvier 2020, le ministère de la Santé publique de Thaïlande a signalé confirmation du premier cas importé de nouveau coronavirus (2019-nCoV) (**OMS, 2020**) .

Le 15 janvier 2020, le ministère de la santé, du Travail et des Affaires Sociales du japon signale de nouveaux cas importés de Coronavirus confirmé en laboratoire **(OMS, 2020).**

Le 20 janvier 2020, la république de Corée a signalée le premier cas de nouveau coronavirus, également à Wuhan, en Chine **(Park *et al*., 2020).**

Au mois de mars 2020, l'OMS a déclaré que le COVID-19 était désormais une pandémie, et certains pays prennent des mesures strictes, comme la fermeture des frontières, l'annulation des jeux mondiaux (Jeux Olympiques, etc.)

Le 11 aout 2020 l'OMS récence 168 vaccins a l'étude dans le monde : 28 aurait déjà été évalué dans le cadre des essais clinique sur l'homme **(OMS, 2020).**

4.Origine :

La nouvelle maladie COVID-19 est causée par un nouveau coronavirus (SARS-COV2) probablement originaire de Wuhan (lié à un marché animal) en Chine **(Ortiz *et al*., 2020) (Zhou *et al*., 2020).** Son génome est identique à environ 96% au génome du virus de la chauve-souris RaTG13 et 93% pour RmYN02 mais ce taux de reconnaissance varie le long du génome, la région RBD (Receptor-Binding Domain) à la protéine humaine ACE2 (Angiotension Converting Enzyme 2) qui assure l'entrée dans les cellules hôtes **(Zhang *et al* ., 2020) .**

Cependant il est identique à 90% au virus du pangolin et sa région RBD est très proche du SARS-Cov-2 , avec une seule mutation d'acide aminé , ciblant plus d'une douzaine chauves-souris **(OMS,2020)**

En raison des similitudes observées , il a été suggéré que le SARS-CoV-2 est un recombinaison dans la région RBD du virus de la chauve-souris pangolin, l'ovulation de cette région dans les souches humaines suggère qu'elle mute rapidement ; il existe une vingtaine de mutation d'acides aminés .l'hypothèse alternative d'une adaptation du virus de chauve-souris dans cette région , plutôt qu'une recombinaison avec le virus du pangolin a été envisagée **(OMS, 2020).**

5.structure :

Les coronavirus ont une enveloppe de taille de 60-220nm, l'observation au microscope électronique permet de distinguer des projections d'environ 20nm à la surface du virion, comprend de l'extérieur vers l'intérieur, la glycoprotéine Spike (S), l'enveloppe (E), la membrane (M), et la nucléocapside (N) **(Jamai *et al*., 2020) Fig.2**

- La glycoprotéine Spike (S) : protéine de surface ancrée dans la membrane virale et confère au virus l'aspect de couronne donc le virus tirent leur nom ' corona ' de cet aspect. La Spike forme de grande structures trimères qui sont essentielles pour l'entrée dans les cellules **(Zaki *et al*,. 2012).**
- La membrane (M) : protéine de la matrice, est la protéine structurelle la plus abondante du virus, elles sont responsables de la courbure membranaire de l'enveloppe virale, notamment par leur interaction avec les protéines E **(Zaki *et al*,. 2012).**

- L'enveloppe (E) : protéine qui n'est présente qu'en petites quantités et forme des canaux ionique , cette protéine n'est pas nécessaire pour la réplication virale mais plutôt pour l'ineffectivité et la pathogenèse **(Zaki *et al*,. 2012).**
- La nucléocapside (N) : icosaédrique à symétrie cubique, contient une molécule de génome viral : de l'acide ribonucléique monocaténaire non segmenté et positif **(Jamai *et al*., 2020) .**

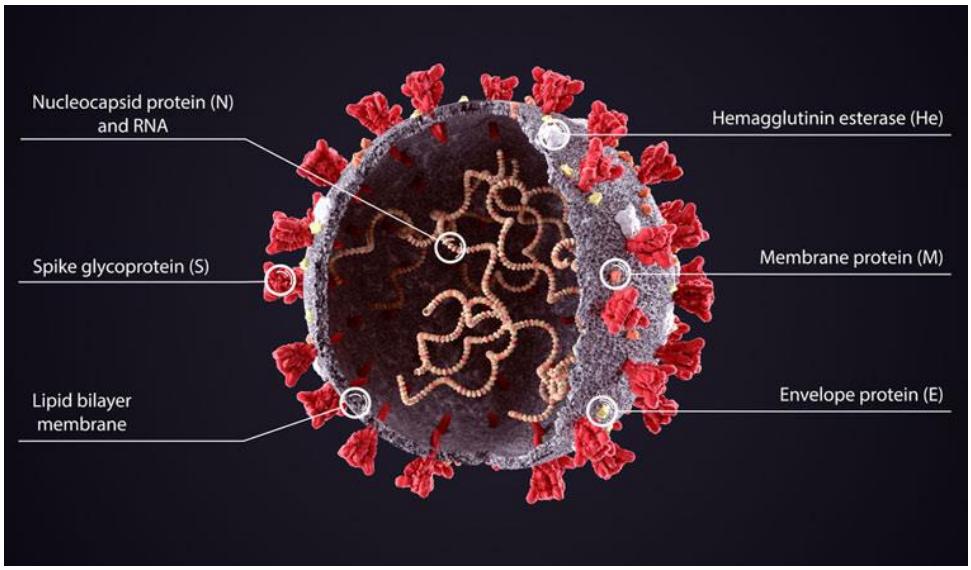

Figure 2. La structure de SRAS-CoV-2 (PTI,2020)

6.Classification :

L'ordre des nidovirales a été créé en 1996 et est divisé en trois familles : Coronaviridae, Arteriviridae et Roneviridae. Les trois familles virales partagent une structure génomique commune et répliquent les génomes de l'ARN sous-génomique, mais elles diffèrent par la structure, la morphologie et la taille du génome (**Desjardin, 2010).**

Le terme coronavirus fait référence à la sous-famille des Coronaviridae et Torovirinae appartient à la famille des Coronaviridae. Selon la taxonomie actuelle, les Coronaviridae sont subdivisés en quatre genres, Alpha, Beta, Gamma et Delta coronavirus. HcoV-229 et NL63 appartiennent au genre Alphacoronavirus, et d'autres coronavirus humains appartiennent au genre betacoronavirus, lui-même subdivisé en quatre clades A, B, C et D, le SRAS-CoV et le MERS-CoV appartiennent respectivement aux clades B et C **(Kin et Vabert, 2016).**

Les genres de ces virus sont divisés en sous-genres puis en espèces. Le genre Betacoronavirus a quatre sous-genres : Embecovirus, Hibecovirus, Merbecovirus et Sarbecovirus. Il existe sept coronavirus qui provoquent une infection humaine, répartis dans les genres Alphacoronavirus et Betacoronavirus **(Segondy, 2020) Tab.1**

Tableau 1.Taxonomie des Coronavirus(comité international de taxonomie des virus).

type	virus
domaine	*riboviria*
règne	*orthornavirae*
embranchement	*pisuviricota*
classe	*pisoniviricetes*
ordre	*nidovirirales*
Sous-ordre	*cornidovirineae*
famille	*coronaviridae*
Sous-famille	*orthocoronavirinae*
Genre er rang inférieur	*Alphacoronavirus* *Betacoronavirus* *Gammacoronavirus* *Deltacoronavirus*

Chapitre 2 : génome de COVID-19

1.généralité :

Sur le plan génétique, le génome du nouveau SARS CoV 2, isolé à partir d'un patient du groupe qui présentait une pneumonie atypique après avoir visité Wuhan, présentait une identité nucléotidique de 89 % avec le SARS- CoVZXC21 de la chauve-souris et de 82 % avec le SARS-CoV humain **(Chan *et al*., 2020).**

2.Organisation du génome :

Le nouveau virus a été appelé SARS-CoV-2, son génome à ARN monocaténaire contenant 29 903 nucléotides codant pour 9860 acides aminés **(Wan *et al*., 2020).**

L'ARN du virus contient entre 7 à 10 gènes fonctionnels, dont 4 ou 5 codent pour les protéines structurales. Protéine (M), glycoprotéine (S), la protéine de l'enveloppe (E), la protéine (N). Les gènes sont arrangés dans un ordre précis 5'-Polymérase-(HE)-S-E-M-N-3', avec un nombre variable d'autres gènes qui sont apparemment non-structuraux (ns) et souvent non-essentiels, du moins en culture cellulaire. Au chevauchement entre les ORF (Open Reading Frame ou Cadre de Lecture Ouvert) des régions 1a et 1b, il y a une séquence (glissante) spécifique de 7 nucléotides et une structure en pseudo-nœud (signal d'un décalage de lecture Ribosomale), qui sont nécessaire pour la traduction de l'ORF 1b **(Ghasemi et Mousavizadeh, 2020) Fig.3**

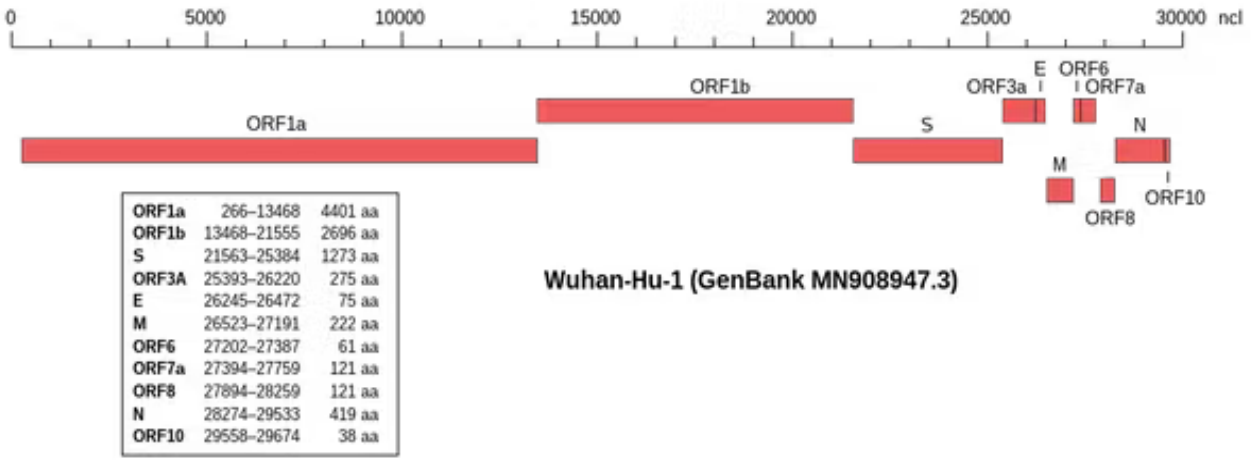

Figure3. Organisation du génome du SRAS-CoV-2 déterminée a Wuhan (Etienne et Virgine, 2022).

3. La similarité et les différences entre le SARS-CoV-2 et les autres coronavirus :

Les coronavirus contiennent de l'ARN simple brin de sens positif (+ssRNA) avec une capside à pointes, similaire à la couronne. Comparés à d'autres virus à ARN positifs, les coronavirus ont de grands génomes et ont des mécanismes complexes pour dépasser les cellules hôtes. Ils sont connus pour traverser les barrières d'espèces, infecter les humains et détourner les cellules hôtes pour une réplication et une propagation **(Salian *et al*., 2021).**

Quatre des six coronavirus connus auparavant pour infecter les humains provoquent des rhumes, des voies respiratoires supérieures et des maladies intestinales. Parmi eux, les béta coronavirus tels que le SRAS-CoV et le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) provoquent des infections des voies respiratoires inférieures graves et souvent mortelles.**(Salian *et al*., 2021).**

Dans le cas d'isolation de l'ARN viral de patients COVID-19 le séquençage a démontré que le virus est un béta coronavirus avec des nouvelles caractéristique génomique , y compris des nouvelles protéines courtes putatives qui potentialisent la réplication et la transmission des protéines virales **(Salian *et al*., 2021).**

Le SRAS et le COVID-19 peuvent les deux survivre jusqu'à 3 jours sur du plastique et jusqu'à 2 jours sur l'acier inoxydable, et de 4 à 7 jours pour le temps entre l'exposition initiale et l'apparition des symptômes (période d'incubation) et cette dernière peut aller jusqu'à 14 jours **(Salian *et al*., 2021).**

Le nombre de reproduction de base R0, est défini comme le nombre moyen d'infections secondaires produites par une personne infectée et est utilisé pour décrire la probabilité de propagation d'une maladie infectieuse. Selon les estimations de l'OMS, le R0 compris entre 1,7 et 1,9 pour le SRAS, tandis que celui pour le COVID-19 est entre 2,0 et 2,5. Cependant, les centres pour le contrôle et la prévention des maladies (CDC) ont estimé que le R0 pour la COVID-19 est beaucoup plus élevé .Une plus grande différence dans la fréquence des cas de COVID-19 par rapport aux cas de SRAS, et sa propagation rapide suggérer que la valeur de R0 pour COVID-19 est susceptible d'être plus proche de l'estimation du CDC .(**Salian *et al* .,2021)**

4.Symptômes :

Les personnes atteintes de COVID-19 présentent divers symptômes 2 à 14 jours après l'exposition au nouveau coronavirus, tels que fièvre, toux, difficultés respiratoires, douleurs musculaires, maux de tête, maux de gorge, douleurs thoraciques et douleurs abdominales .

Le symptôme le plus courant est la fièvre (98%) , suivi de la toux (76%) , myalgie (49,3-60,9%) , maux de tête (35,4-55,8%) de la dyspnée (55%) , douleurs musculaires ou fatigue (44%) , production d'expectorations (28%) , maux de gorge (12,5-23,2%) , douleurs thoraciques (10,4%) céphalées (8%) , hémoptysie(5%) , douleurs abdominales (3,5%) et diarrhée (3%) **(Weng *et al*., 2021).**

Donc le virus envahit non seulement le système respiratoire , mais infecte également d'autres systèmes comme le système nerveux , le système digestif , le système cardiovasculaire **(Weng *et al*., 2021).**

5.Mode de transmission du SARS-CoV-2 :

Les patients atteints de COVID-19 éternuent et toussent fréquemment, produisant un panache viral de milliers de gouttelettes par centimètre cube (**Salian *et al*., 2021).**

Le SRAS-CoV-2 peut être transmis par des moyens directs (gouttelettes et transmission de personne à personne) et par contact indirect (objets contaminés et transmission aérienne). Pendant ce temps, les équipements de protection individuelle (EPI) peuvent également être une source d'infections aéroportées **(Lotfi *et al*., 2020).**

On pensait initialement que les agents pathogènes étaient transportés par les patients à travers de plus grosses gouttelettes qui se déposent sur les surfaces, puis se propagent à l'hôte par la poussière s'élevant des gouttelettes séchées. Récemment, il a été constaté que la taille des gouttelettes produites par les patients COVID-19 lors d'éternuements et de toux sèche était comprise entre 0,6 et 100 µm, et que le nombre de gouttelettes augmentait proportionnellement à la fréquence de la toux. Plus de 97% de ces gouttelettes avaient tendance à être inférieures à 50 µm, la plupart étant inférieures à 10 µm. 39–41 Les patients symptomatiques ou asymptomatiques peuvent également générer et libérer de grandes quantités de gouttelettes inférieures à 1 µm par une respiration et une parole normales (**Silian *et al*., 2021**) et parmi des dizaines de milliers de patients confirmés en Chine, le taux d'infection secondaire au COVID-19 est de 1 à 5 % (**Lotfi *et al*., 2020**).

Lorsque les gouttelettes dans l'air s'évaporent pour former des noyaux de gouttelettes, la distribution de la taille des particules peut se déplacer encore plus bas. La formation de noyaux de gouttelettes dépend de la température et de l'humidité ambiantes, ainsi que de la taille des gouttelettes. Les gouttelettes inférieures à 10 µm sont plus susceptibles de former des noyaux de gouttelettes avant de se déposer. Ces gouttelettes restent en suspension dans les nuages d'air émanant de la toux ou du mouvement de l'air ambiant. .Les gouttelettes de moins de 50 µm de diamètre survivent plus longtemps dans le panache sans s'évaporer et contaminer de manière significative les surfaces éloignées et les systèmes de ventilation (**Silian *et al* .,2021**).

alors Le COVID-19 survient lorsqu'une personne touche une surface contaminée par le SRAS-CoV-2, puis que les mains touchent directement les muqueuses telles que les yeux, le nez ou la bouche (**Lotfi *et al*., 2020**). Les aérosols du SRAS-CoV-2 peuvent survivre dans l'air pendant au moins 3 heures, avoir une demi-vie d'environ 1 heure et sont infectieux pour infecter les hôtes humains (**Silian *et al*., 2021**).

6. Mécanismes cellulaire sous-jacents à l'entrée du SRAS-CoV-2 dans l'hôte humain :

Les virus pénètrent dans les cellules hôtes par endocytose médiée par les récepteurs, qui est déclenchée lorsque le domaine de liaison au récepteur du virus se lie au récepteur correspondant sur la cellule hôte ainsi que la protéine S du SRAS-CoV présente une affinité pour le récepteur ACE-2, qui est le point d'entrée de l'ARN viral du SRAS-CoV dans les cellules hôtes. En raison de la forte homologie structurelle entre la protéine S du SARS-CoV et du SARS-CoV-2, le récepteur ACE-2 facilite également l'entrée cellulaire du SARS-CoV-2 (**Silian *et al*., 2021**).

7. Cycle virale et réplication de SARS-CoV-2 :

Le cycle de multiplication du Sars-CoV-2 dans les cellules comprend plusieurs étapes Fixation, pénétration et décapsidation puis synthèse des macromolécules (acides nucléiques et protéines), selon trois phases : précoce-Immédiate, immédiate et tardive. Ces synthèses vont permettre l'assemblage de la nucléocapside puis Les virions infectieux sont enveloppés et libérés lors de la lyse cellules infectées. Ce cycle lytique est présent dans les cellules des voies respiratoires infectées par le virus. Les virus se fixent spécifiquement sur les récepteurs des cellules sensibles grâce a une Interaction de haute affinité entre la protéine virale S et l'ACE2.

7.1 Phase d'attachement :

La protéine de pointe (S) assure la médiation de l'entrée du SRAS-COV-2 dans les cellules hôtes, c'est-à-dire La pointe virale se lie au récepteur ACE via son domaine de liaison RBD. cette protéine Composé de deux domaines, le domaine S1 est responsable de Récepteur RBD et domaine S2 responsables de la fusion de l'enveloppe virale membrane cellulaire .

L'entrée du SRAS COV-2 est activée par la protéine convertase furine, tandis que échapper à la surveillance immunitaire. **(Shang *et al*,. 2020).** .

7.2 Phase de fusion :

Une fois attachée au récepteur ACE2, l'enveloppe virale interagit avec membrane de la cellule hôte ; cette étape nécessite une ou plusieurs coupures (clivage) la protéine S, une protéine de très grande surface composée de plus de 1200 acides aminés, par plusieurs enzymes de la cellule hôte telles que les cathepsines Protéases à sérine de surface transmembranaire (TMPRSS), trypsine et Flynn. Le mécanisme par lequel la furine clive les protéines de l'enveloppe virale est rencontrer d'autres virus tels que le SIDA, Ebola, la dengue ou Grippe A (**Hoffmann *et al*., 2020).**

Selon le coronavirus concerné et le type de cellule infectée, le clivage peut se produit à différents sites dans la protéine S et à différents moments du cycle .La longévité d'un virus aura un fort impact sur sa pathogénicité. La protéine S du SARS CoV-2 et du MERS-CoV possède un site de clivage pour la furine, une protéase exprimée de manière quasi-ubiquitaire par l'ensemble des cellules Quoiqu'à un niveau variable d'un type cellulaire à l'autre **(Coutard *et al*., 2020).**

7.3 L'entrée dans la cellule et réplication :

Une fois l'étape de fusion terminée, le virus injecte son gène génétique (ARN) dans le cytoplasme Comme tout ARN messager, grâce à la machinerie de traduction de la cellule (ribosome), qui permet la synthèse de l'ARN polymérase, impliquée dans la réplication ARN viral et autres protéines virales qui s'assemblent avec l'ARN en particules viral. Ces nouveaux virus ou virions quittent la cellule par exocytose puis à nouveau La furine peut jouer un rôle en facilitant la libération de virions à l'extérieur de la cellule infecté. Ceux-ci peuvent infecter de nouvelles cellules ou contaminer d'autres cellules en étant expectorés par des gouttelettes que les gens crachent sont inhalées par la bouche, nez et yeux (**V'kovski *et al*., 2021).**

Chapitre 3 : les différents variants , COVID-19 en Algérie.

1.Généralité :

Les coronavirus subissent des mutations adaptatives lors de la réplication ,les génomes viraux peuvent altérer le potentiel pathogène des virus, même avec un seul échange des acides aminés peuvent affecter de manière significative la capacité d'un virus à échapper le système immunitaire et complique le processus de développement de vaccins contre le virus. **(Nathan *et al*., 2020).**

Comme les autres virus à ARN, le SRAS-COV-2 nécessite une évolution génétique tout en s'adaptant à de nouveaux hôtes humains à mesure que les mutations génétiques se développent au fil du temps, résultant en plusieurs variants qui peuvent avoir a des caractéristiques différentes par rapport à ses souches ancestrales . Le séquençage régulier du génome des échantillons de virus permet de détecter tout nouveau variants génétiques du SRAS-COV-2 répandues dans la communauté, en particulier dans contexte mondial de la pandémie. **(Aleem *et al*., 2022).**

l'OMS ont indépendamment établi un système de classification pour distinguer les variants émergents du SARS COV 2 en variants préoccupants (la lignée B.1.1.7 ou alpha ; la lignée B.1.351 ou beta ; la lignée P1 ou gamma et la lignée B.1.617.2ou delta) et variants d'intérêts (epsilon B.1.427 et B.1.429 ; zêta P.2 êta B.1.525 ; lota B.1.526 ; thêta P3 ; kappa B.1.617.1 et lambda C37 **(OMS, 2021).**

2.Les Variants préoccupants de coronavirus :

2.1. Le variant Anglais (Alpha selon l'OMS):

Il s'agit de la variante B.1.1.7, également connue sous le nom de VOC 202012/01 ou 20B/501Y.V1 , le 14 décembre 2020 les autorités Britanniques ont déclarés une augmentation de l'incidence de l'infection par le SRAS-CoV-2 signalée dans l'Est et le Sud de l'Angleterre et la région métropolitaine de Londres, associée à l'émergence d'une nouvelle variante du SRAS-CoV-2. Le premier échantillon clinique dans lequel il a pu être identifié remonte à septembre 2020. Depuis lors, il a largement remplacé les virus en circulation, devenant le variant prédominant au Royaume-Uni.

Ce variant comporte une transmission plus grande, ce qui aide L'incidence, les hospitalisations et le stress du système de santé ont augmenté depuis la seconde moitié de décembre 2020.

Des études épidémiologiques et des modèles mathématiques montrent que, Se propage 56 % plus rapidement que les autres lignées et entraîne des charges virales nasopharyngées plus élevées que la souche de type sauvage **(Davies *et al.*, 2021) .**

Le Royaume-Uni a signalé le taux de mortalité quotidien le plus élevé en janvier 2021, avec une étude observationnelle rétrospective due au COVID-19 depuis le début de la pandémie estimée 35 % (12-64 %) l'augmentation du risque de mortalité associé au variant B.1.1.7. Cela suggère que non seulement elle est plus transmissible que les lignées préexistantes, mais Cela peut également entraîner des maladies plus graves**.(Davies *et al.*, 2021).** Cependant, rien ne prouve que la maladie soit plus grave chez les enfants et les jeunes adultes **(Brookman *et al.*, 2021).**

Le variant B.1.1.7 comprend 17 mutations dans le génome virale **(Aleem *et al.*, 2022).**

On ne sait pas comment cette variation est devenue importante, bien que les différences génétiques inhabituelles dans la lignée B.1.1.7 puissent être dues au moins en partie à l'évolution du virus chez les individus infectés de manière chronique. **(Rambaut *et al.*, 2020).**

La propagation rapide de la variante B.1.1.7 à l'intérieur et à l'extérieur du Royaume-Uni suggère que ce variant pourrait devenir la lignée dominante responsable des infections à venir en Europe **(O'toole *et al.*, 2021) Fig.4**

Figure 4. Propagation du variant Alpha dans le monde (source OMS).

2.2. Variant Sud-Africain (Beta selon l'OMS)

Le variant B.1.351, également connue sous le nom de 20H/501Y.V2 , identifié par les autorités de la République d'Afrique du Sud le 18 décembre 2020. Le premier échantillon clinique dans lequel ce variant peut être détectée remontent au 8 octobre 2020, un mois plus tard, il a remplacé les virus en circulation dans la région, devenant le variant dominant. Ce comportement indique un taux de transmission plus élevé, bien que Aucune preuve que la maladie est plus virulente ou grave rapporté **(Tegally *et al*., 2021) Fig.5**

Par rapport à la souche de référence de Wuhan, le variant B.1.351 présente 9 mutations dans la protéine Spike, dont trois mutations sont localisé au niveau de RDB **(Aleem *et al*., 2022).**

Comme tous les autres variants, il pourrait être apparu par évolution intra-hôte chez un ou plusieurs individus présentant une réplication virale prolongée. Cependant, le nombre élevé de mutations accumulées dans deux régions les plus immun dominantes de la protéine S, telles que les domaines NTD et RBD, suggère qu'il pourrait également s'agir d'un variant échappant à la neutralisation **(Tegally *et al*., 2021).**

Les variants B.1.351 et B.1.1.7 partagent la mutation N501Y, située dans le domaine RBD de la protéine Spike. Cette mutation confère une affinité de liaison accrue de la protéine S et le récepteur ACE2, ce qui augmente le taux de transmission virale. Cependant, en plus de la mutation N501Y, ce variant accumule deux mutations supplémentaires dans le même domaine RBD (K417N et E484K) qui pourraient jouer un rôle pivot à la fois dans l'interaction avec le récepteur et dans l'évasion immunitaire **(Starr *et al*., 2020).**

De plus, une étude de simulation de dynamique moléculaire révèle que les mutations E484K et N501Y augmentent l'affinité de S RBD pour ACE2 et que E484Ken particulier change la charge sur la région de la boucle flexible de RBD, ce qui conduit à la formation de nouveaux contacts favorables. En outre, la combinaison des mutations E484K, K417N et N501Y entraîne le plus haut degré d'altérations conformation elles de RBD lorsqu'il est lié à hACE2 par rapport à E484K ou N501Y seuls, ce qui permet au virus d'échapper plus efficacement à la neutralisation (**Nelson *et al*., 2021).**

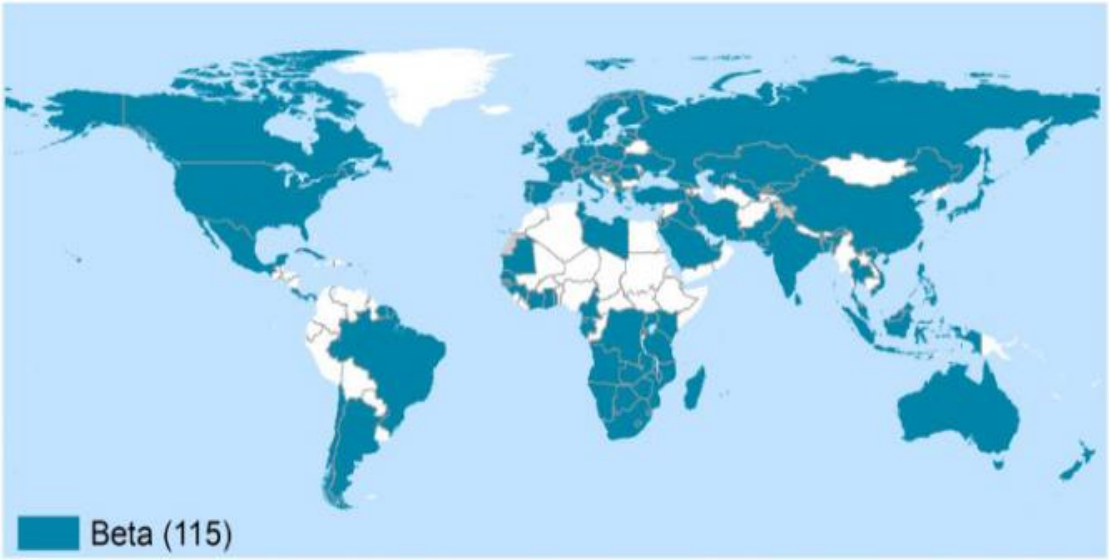

Figure 5. Propagation du variant Beta dans le monde (source OMS)

2.3. Variant Brésilien (Gamma selon l'OMS)

Il est connue sous le nom de B.1.1.28.1 ou P1. Il a été détecté par l'Institut national des maladies infectieuses du Japon le 6 janvier 2021 et a été isolée chez quatre voyageurs arrivés à Tokyo en provenance d'Amazonas, au Brésil, le 2 janvier 2021 lors du contrôle de l'aéroport. La variante P.1 a ensuite été identifiée au Brésil, où elle est devenue le virus circulant dominant **(Faria *et al*., 2021) Fig.6**

Ce variant comporte 17 mutations non synonymes dans la protéine S et l'ORF1ab et l'ORF8 et dans la protéine N ; 1 délétion dans l'ORF1ab et 4 mutations synonymes.

P1 est le variant du SRAS-CoV-2 qui accumule un grand nombre de mutations dans la protéine Spike (12 mutations).

La mutation N501Y est présente dans les trois variants, tandis que les mutations L18F, K417T, E484K et D614G sont partagées avec la de mutations en épi a des implications importantes pour la transmission, les taux de réinfection et l'évasion de l'immunité méditée par les anticorps **(Felipe, 2020).**

Figure 6. Propagation du variant Gamma dans le monde (source OMS).

2.4. Le variant Indien (Delta selon l'OMS)

Le variant delta (B.1.617) a été identifiée pour la première fois en Inde en décembre 2020, il est devenu prédominant dans l'état indien et le Royaume-Uni , et s'est propagée à de nombreux autres pays , le 10mai 2020 il a été répertorié comme variant préoccupante par l'Organisation mondiale de la santé , et serait 60 % plus transmissible que le variant alpha **(Planas et *al*., 2021) Fig. 7**

La protéine Spike de ce variant contient huit mutations dont quatre dans la NTD, deux dans le RBD, une mutation pré du site de clivage de la furine et une dans la région S2.

Il est connu comme un "Double Mutant" parce qu'il porte spécifiquement deux mutations préoccupantes dans la protéine Spike du virus Sars-CoV-2. La première, E484Q, est proche de celle déjà observée sur les variants sud-africain et brésilien (E484K), soupçonnée d'entraîner une moindre efficacité de la vaccination et un risque accru de réinfection. La seconde, L452R, est également présente dans un variant repéré en Californie et pourrait être capable d'entraîner une augmentation de la transmission. C'est la première fois qu'on les repère ensemble sur un variant ayant une diffusion importante (**Bernal *et al*., 2021).**

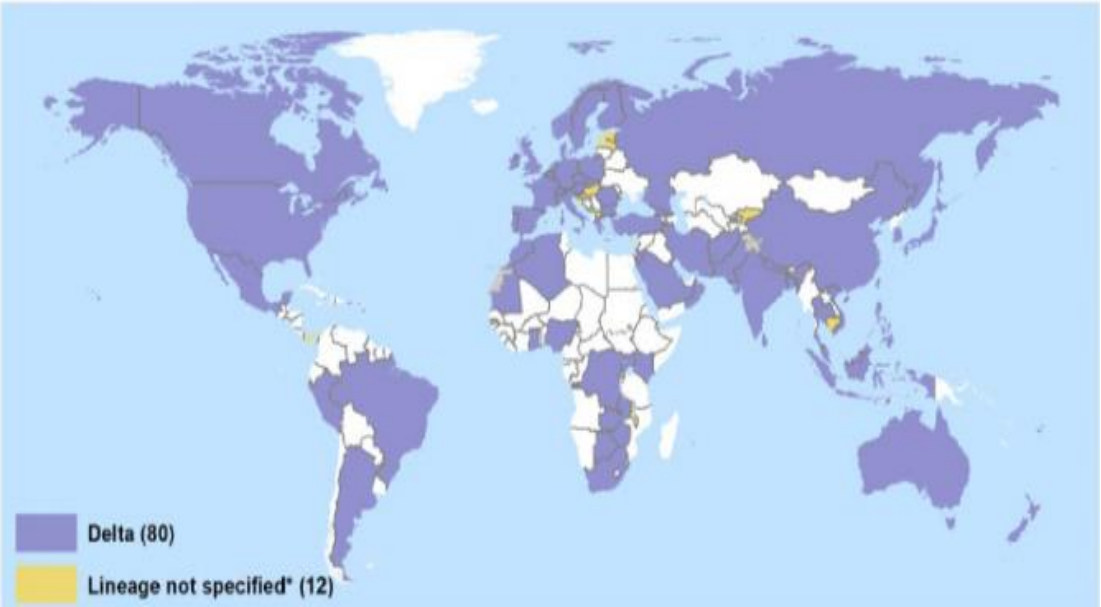

Figure 7. Propagation du variant Delta dans le monde (source OMS) .

2.5. Le variant Omicron (B.1.1.529) :

Le variant Omicron du SARS-CoV-2 a été identifie pour la première fois en Afrique du Sud et Botswana et a été signalée par l'OMS le 24 novembre 2021 en tant que nouveau variant, il est annoncé en tant que variant préoccupant (VOC) par l'OMS le 26 novembre 2021 .Ce variant comporte 50 mutations dans son génome , 30 mutations conduisant à des changements d'acides aminés dans la protéine Spike , 15 mutations situées dans le RBD **(Ferré *et al*., 2022).**

En comparaison avec d'autres COV le variant Omicron a une transmissibilité plus élevée même chez les personnes vaccinées par rapport à la version Delta et d'autres COV **(Ferré *et al*.,2022).**

Tableau2. Les variants préoccupant de SARS-CoV-2 (source OMS)

nomenclature	Lignage PANGO	Première détection
Alpha	B.1.1.7	Royaume-Uni Septembre 2020
Beta	B.1.351	Afrique du Sud Mai 2020
Gamma	P1	Brésil Novembre2020
Delta	B.1.617.2	Inde Octobre 2020
Omicron	B.1.1.529	Afrique du Sud et Botswana Novembre 2021

3. SARS-CoV-2 en Algérie :

Depuis la propagation de l'épidémie de COVID-19 en Chine, plusieurs stratégies de prévention ont été développées dans le monde pour lutter contre la propagation du SRAS-CoV-2, et en Algérie, les mesures de contrôle sont principalement la distanciation sociale, les restrictions de mouvement, la quarantaine et le confinement **(Hamidouche, 2020).**

Au 1 juin 2022 , plus de 500 millions de cas cumulés de SRAS-CoV-2 avait été signalés dans le monde avec plus de 6millions de décès dont plus 260000 cas ont été confirmés en Algérie avec plus de 6800 de décès attribués au virus **(JHU CSSE ,2022).**

3.1. Epidémiologie du SRAS-CoV-2 en Algérie :

En Algérie, le 25 février 2020 a marqué le premier cas confirmé d'infection par le SRAS-CoV-2 dans le sud du pays, lorsqu'un employé italien a été testé positif à Ouargla où se trouve plusieurs travailleurs internationaux. L'incident a été bien maîtrisé et aucun autre cas n'a été signalé avant début mars 2020, car deux autres cas ont été enregistrés à la suite d'un contact avec un membre de la famille en visite depuis la France. Ces cas seraient comme l'apparition du premier foyer à Blida **(Menasria et Aguilera, 2022).**

L'Algérie est en confinement total à partir de la mi-mars 2020 et toutes les transmissions qui interviennent après cette date sont le résultat de transferts locaux ou de rapatriement algérien **(Zeghbib *et al*., 2021).**

L'orsque l'épidémie de SRAS-CoV-2 est arrivée en Algérie 2mois après l'épidémie initiale en Chine, l'Algérie avait le temps pour se préparer les mesures de prévention **(Hamidouche, 2020).**

les frontières terrestres et aériennes ont été suspendue a compter du 17 mars 2020.

la propagation de virus en Algérie est de Boufarik vers Blida et Bouira, puis de Bouira vers Adrar, Alger, Sétif, Ouargla, El Oued et Tipaza, ensuite de Ouargla vers Tizi Ouzou. Sétif à Laghouat, puis d'Adrar à Bordj Bou Arreridj, et enfin, de Bouira à Ouargla et Ouargla à Ain Salah . **(Zeghbib *et al*., 2021).**

Le pays a connu plusieurs vagues de pandémie La deuxième vague entre octobre et décembre 2020 et la troisième vague à la mi-juillet et en aout 2021 **(Menasria et Aguilera, 2022).**

3.2 .Analyses du génome :

Dans cette étude d'analyse du génome, la séquence de référence de Wuhan et 18 génomes algériens complets ont été pris **(Zeghbib *et al*., 2021).**

Dans le gène ORF1a :

Dans les 200 premiers codons, seul un taux de mutation synonyme modeste a été observé. Le taux de non-synonymes a augmenté jusqu'au codon 1100. Les taux synonymes et non synonymes augmentaient avec des taux de mutation synonymes plus élevé jusqu'à la fin de la région codante **(Zeghbib *et al*., 2021).**

Dans le gène ORF1b :

Seules les mutation non synonymes se sont élevées jusqu'au codon 680 . Les taux de mutations synonymes et non synonymes montrent une alternance entre les phases d'augmentation et stationnaires jusqu'au codon stop **(Zeghbib *et al*.,2021).**

Dans le gène S :

Une augmentation de taux des synonymes était apparente à partir du codon 280 avec alternance d'une forte augmentation de phases stationnaires jusqu'au codon 600 , ou le taux non synonyme s'est stabilisé avec le même schéma d'alternance et un taux plus élevé de synonymes jusqu'au codon 90 .une phase stationnaire neutre (ds=dn) jusqu'au codon 1160 où un taux de synonymes plus élevé est détecté **(Zeghbib *et al*., 2021).**

Dans le gène M :

Une augmentation de taux des synonymes dans le codon 35 suivi d'un taux stable jusqu'au codon 69. Après cela, une augmentation de taux au codon 70 suivi par une phase stationnaire jusqu'à la fin de la séquence de codage **(Zeghbib *et al*., 2021).**

Dans le gène N :

Un taux de mutations non synonymes plus élevé par rapport au mutations synonymes **(Zeghbib *et al*., 2021).**

Dans le gène E :

Présentait un taux de mutations non synonymes élevé dans le codon 72 **(Zeghbib *et al*., 2021).**

Dans le gène ORF8 :

Présentait un taux de mutations synonymes dans le codon 24 et le codon 116 avec un taux constant entre les deux positions alors que la position de codon 120 cumulait des mutations non synonymes **(Zeghbib *et al*., 2021).**

Dans le gène ORF3a :

Affichait un taux de mutations non synonymes plus élevé que de mutations synonymes **(Zeghbib *et al*., 2021).**

D'après l'attribution de la lignée génomiques et classification des clades GISAID, Les séquences algériennes appartiennent à différentes lignées et clades. Plusieurs SNP ont été détectés dans la séquence algérienne par rapport à la séquence de référence. Des substitutions d'acides aminés ont été observées sur divers gènes par rapport à la séquence de référence **(Rambaut *et al*., 2020) Fig.8**

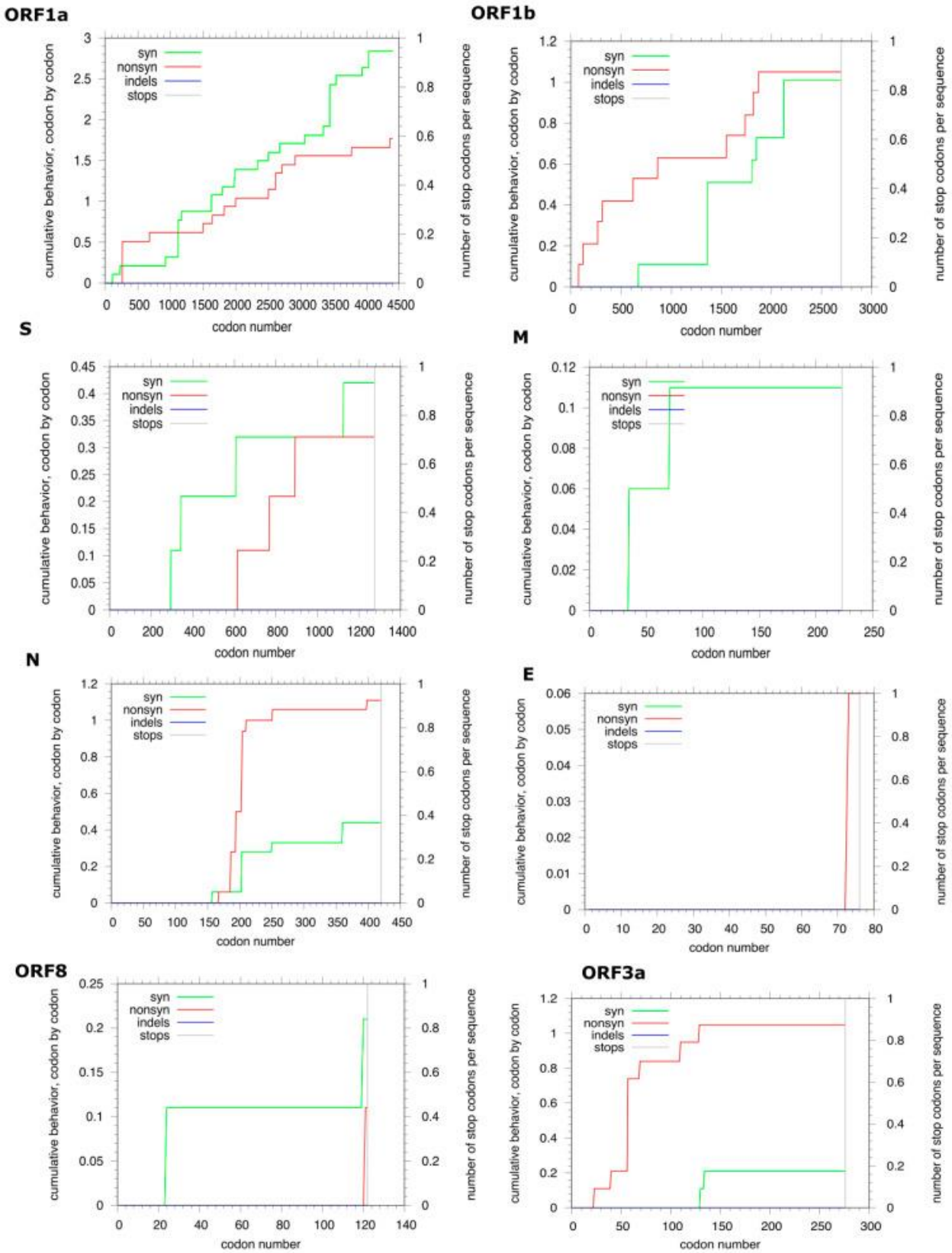

Figure 8. Les substitutions synonymes et non synonymes le long de chacun des huit gènes analysés (Zeghbib *et al*., 2021).

3.4. Diagnostic de COVID-19 en Algérie :

La confirmation de l'infection est basée sur le test PCR, ce diagnostic a été effectué par l'Institut Pasteur a Alger (IPA) et devant le nombre élevé des patients d'autres centre de diagnostic ont été mis en service (les annexes de l'IPA, les laboratoire de certains université, les laboratoires des hôpitaux) . Le diagnostic par tomodensitométrie thoracique été adopté le 6 avril 2020 comme support pour le dépistage de virus. Plus les tests antigénique rapide et tests sérologique qu'ils ont été développés plus tard **(Hannoun *et al*., 2020)**

3.5. Traitement de COVID-19 en Algérie :

L'Algérie comme plusieurs d'autres pays a fait le choix d'incorporer l'hydroxychloroquine dans le protocole de traitement pour les formes sévères et modérées , puis à tous les cas confirmés . L'hydroxychloroquine a été associée à l'azythromycine en cas de contre indication **(Hannoun *et al*., 2020).**

3.6. La vaccination COVID-19 en Algérie :

le gouvernement a mis en place une série de mesures pour accélérer la vaccination. La première étape consiste à assurer la disponibilité du vaccin et pour cette raison , le gouvernement a commandé 17 millions de doses du vaccin Sinovac et 1 millions de doses du vaccin AstraZeneca et 600000 doses du vaccin Moderna. Parallèlement , un accord avec la Chine qui permet à l'Algérie de fabriquer localement le vaccin de sinovac à partir de septembre 2021. Auparavant , le gouvernement avait également signé une convention avec la plus grande société pharmaceutique du pays Saidal pour fabriquer le vaccin Spoutnik-V et pour réussir cette campagne l'Algérie a utilisé tous les moyens pour sensibiliser la population a se faire vacciner contre le COVID-19 **(Lounis, 2021).**

chapitre 4 : méthodes de détection de COVID-19

la détection du COVID-19 repose sur la réalisation d'un test RT-PCR(Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction), d'un test rapide antigénique, d'un test sérologique.

Le test RT-PCR

1. Introduction :

Pour le diagnostic du COVID-19 à Mostaganem le test RT-PCR , est réalisé dans laboratoire P2 de la faculté Science de la Nature et de la Vie au niveau de l'université de Mostaganem, ce dernier dispose de tous les moyens et l'équipement pour réaliser la détection de virus, il est devisé d'une salle de réception des prélèvements, une salle de tenues de sécurité, de 3 salles de traitement d'échantillons qui se termine par le vestiaire et le coin de poubelle .

2. Matériel et méthode :

Tout d'abord il faut appliquée les mesures de prévention et d'hygiène, habillage et déshabillage .

2.1. Prélèvement et conservation :

Pour éviter toute contamination, il faut que le manipulateur doit porter une blouse, un masque FFP2, de gants et de lunettes de sécurité et le patient doit porter le masque chirurgical. Le prélèvement nasopharyngé est fait par un établissement public de la santé, le patient doit être assit avec une position de la tête vers l'arrière à 70° par la suite insérer l'écouvillon dans les narines jusqu'à ou sentir une résistance (le nasopharynx) et faire tourner délicatement l'écouvillon et laisser en place quelques secondes pour prendre les cellules de nasopharynx puis le retirer doucement et le placer dans le tube immédiatement, le prélèvement est stocké dans frigo à (2-8°c pour 24h et -80°c pour + de 24h) et transporté a laboratoire de l'université de Mostaganem pour le traitement .

2.2. Extraction de l'ARN viral :

Après la réception d'échantillon et l'enregistrement de la fiche de renseignement du patient dans logiciel, dans une hotte à flux laminaire **Fig.9** la première étape de réalisation de l'extraction c'est la lyse cellulaire après la préparation des tubes eppendorfs pour l'échantillon et le contrôle positif et négatif .

Figure 9. Hotte à flux laminaire (laboratoire p2-université de Mostaganem)

cela est possible grâce à l'ajout d'un tampon de lyse tel que (Buffer AVL), la deuxième étape c'est la précipitation de l'ARN avec la présence de l'éthanol, ensuite l'ajout d'une solution de lavage 1 (Wash buffer Aw1) et (Wash buffer 2) pour le 2éme lavage **Fig.10**, puis l'ajout d'un tampon d'élution pour éluer l'ARN et dans chaque étape le tube eppendorf il est vortexer à l'aide d'un mini agitateur-Vortex et centrifuger a l'aide d'une centrifugeuse d'appoint(mini spin) .

Figure 10. Tampons lyse et lavage –QIAGEN (laboratoire P2 université de Mostaganem)

2.3. Pré-amplification (Mix-PCR) :

la pré-amplification s'effectuer a l'aide d'un enzyme (RT) et le kit invitrogen-Platinium-hot Start PCR Master Mix(2x) une solution concentré 2x d'ADN polymérase *Taq*, de dNTP et tous les composants nécessaire à la PCR , il existe aussi d'autres kit comme Molecision et il faut que le kit doit basé sur le gène ORF2 et le gène N. **Fig.11**

Figure 11. Kits Invitrogen et Molecision (laboratoire P2-Université de Mostaganem)

2.4. Amplification :

L'amplification s'effectuer à l'aide d'un thermocycleur en temps réel (Rotor-gene *Q*) et un logiciel d'analyse de pointe. **Fig.12**

La réaction de polymérase en chaine (PCR) quantitative a lieu en 3 phases : une dénaturation à 95°c pour la séparation des deux brins, l'hybridation des amorces aux extrémités de la séquence a 50-65°c puis l'élongation a 72°c.

La durée du cycle pcr et entre 1-5 minutes selon la longueur du fragment d'ADN qui doit être amplifié , le cycle est répété de 20 à 50 fois .

Figure 12. Thermocycleur en temps réel (Rotor gene Q) (Laboratoire p2 université de Mostaganem)

3. Résultats et discussion :

L'analyse des résultats s'effectue à l'aide d'un logiciel , l'ARN viral est détectable 2 jours avant l'apparition des symptômes .

La valeur Ct (cycle seuil) est une valeur numérique signifie le nombre de cycle nécessaire pour enregistrer un signal sous forme d'une courbe qui présente la charge viral d'un échantillon **(Salomon et Worms, 2020) Fig.13**

Selon SALOMON et WORMS généralement la technique RT-PCR ciblant le gène ORF1, le gène (N), le gène de la protéine de surface (Spike) , le gène (E) et le gène de la RdRp, il est recommandé de ciblant au moin 2 gène et le résultat interprété comme suite :

- Résultat « positif fort », si deux cibles détectées avec: Ct ≤ 25.
- Résultat « positif », si deux cibles détectées avec: 25< Ct ≤ 33.
- Résultats à contrôler, si uniquement une cible détectée sur deux avec Ct < 33.
- Résultat « positif faible », si uniquement une cible détectée sur deux avec 33<Ct < 37.
- Résultat «à contrôler» ou « négatif », si une ou deux cible(s) détectée(s) sur deux avec Ct ≥ 35.

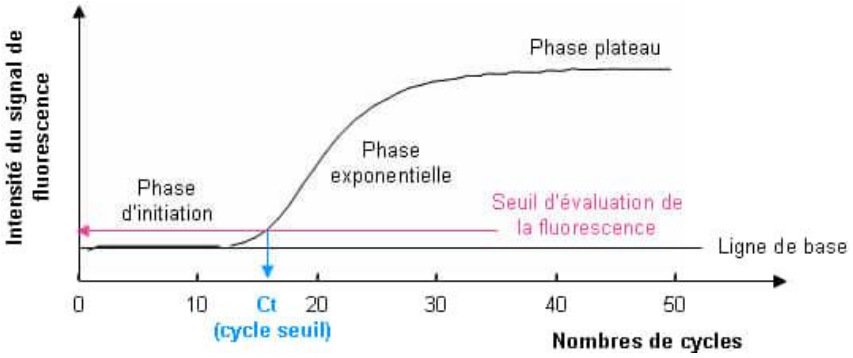

Figure 13. Les trois phases de la réaction RT-PCR (Quemeneur, 2008)

Le test sérologique :

1. Introduction :

La deuxième méthode de détection de COVID-19 a Mostaganem est le test sérologique, c'est un test réalisé après 8 jours de l'apparition des symptômes. Dans un service biochimie-hormonologie d'un laboratoire privé a Mostaganem, ce dernier est devisé d'une salle de réception, salle de prélèvement et une salle de traitement d'échantillons .

2. Matériels et méthode :

2.1.Prélèvement :

Après l'inscription du patient (Nom, Prénom, Date de naissance, n°=d tél), la prise de sang est réalisé dans la salle de prélèvement a l'aide d'un tube hépariné (tube vert contient de l'héparine qui empêche le sans de coaguler).

2.2.Traitement d'échantillon :

Tout d'abord il faut centrifugé le tube a une vitesse de 4000 tours/min pendant 15 min le plasma reste en surface alors que le culot reste au-dessous. **Fig.14**

Figure 14. Résultat de centrifugation du sang (Lab privé – Mostaganem).

le test sérologique est effectué a l'aide d'un Automate mindray CL-900i, placer le tube centrifugé dans l'appareil et sélectionner nCOV IgG et nCOV IgM et lancer le traitement. **Fig.15**

Figure 15. Traitement d'échantillon avec automate mindray (Lab privé–Mostaganem).

Dans quelques minutes les résultats seront prêts .

3. Résultats et discussion :

Il existe 4 résultats possible de test sérologique :

- Si IgM - et IgG - , pas d'infection actuelle. Si un doute d'infection existe refaire le test quelques jours plus tard .
- Si IgM+ et IgG+ , ce résultat suggère une infection dans la phase intermédiaire de la maladie . Il est probable de transmettre la maladie a autres personne .
- Si IgM- et IgG+ , le patient n'est plus infectieux et il ya une guérison de la maladie.
- Si IgM+ et IgG- , ce résultat suggère une infection récente de la maladie .

Les résultats peut être confirmé par un test RT-PCR ou un test antigénique .

Le test antigénique :

1. Introduction :

La 3éme méthode de détection de COVID-19 a Mostaganem est le test antigénique, c'est un test réalisé avant 8jours de l'apparition des symptômes dans un laboratoire privé ou dans une pharmacie , c'est un autotest rapide composé d'une casette, réactif, écouvillon, tube. **Fig.16**

Figure 16. Test antigénique .

2. Matériels et méthode :

2.1. Prélèvement :

Avec un prélèvement nasopharyngé comme le test pcr (voir prélèvement pcr).

2.2. Traitement de prélèvement :

Placer l'écouvillon dans le tube et le tourner au moins 6 fois en pressent sa tête contre le fond et les cotes du tube , laisse l'écouvillon 1 minute dans le tube .Retirer l'écouvillon en le pressant contre les parois du tube et le jeter , retirer la casette et la poser sur une surface plane et faire déposer 4 gouttes de préparation dans le puis S de la casette , le résultat doit être lu à 15-20minutes .

3. Résultat et discussion :

L'apparition des bandes colorées **Fig.17**, l'intensité des bandes rouges peut varier.

- Si une bande colorée apparait au niveau de la lettre (C) le test est négatif .
- Si deux bande colorée apparait au niveau de la lettre (C) et la lettre (T) le test est positif (même si la deuxième bande elle est moins intense que la première).

Figure 17. Résultats positif à droite et négatif à gauche d'un test antigénique.

Conclusion :

Le test RT-PCR et le test antigénique ont le même type de prélèvement (nasopharyngé), et le test sérologique s'effectue avec un prélèvement sanguin .

Le test RT-PCR il détecte la présence des gènes de COVID-19 et le test antigénique recherche la présence de protéines du virus et le test sérologique recherche la présence d'anticorps dirigés contre le virus dans le corps humain .

Le test RT-PCR est le test le plus fiable et sensible dans la détection du virus mais le test antigénique est plus rapide, le test sérologique montre si la personne est immunisée contre le COVID-19 mais il est négatif si l'infection elle est récente car les premiers jours de la contamination le système immunitaire ne produit pas suffisamment d'anticorps donc il est moins sensible .

Conclusion générale

La COVID-19 est une maladie infectieuse causée par le nouveau coronavirus. La wilaya de Mostaganem est parmi les wilayas d'Algérie qui sont touchées par la pandémie, ce qui permet de réalisé ce travail pour l'objectif de déterminer les méthodes de détection de COVID-19 à Mostaganem .

Les méthodes de détection de COVID-19 à Mostaganem sont basées sur le test RT-PCR réalisé dans l'université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem après un prélèvement nasopharyngé effectué par un établissement public de la santé ou avec des tests sérologique et antigénique effectué dans un laboratoire d'analyses médicales privé après un prélèvement sanguin pour le sérologique et un prélèvement nasopharyngé pour l'antigénique.

Pour empêcher la propagation de virus dans le monde l'OMS a déterminer des mesures de prévention; restez chez vous si vous sentez de l'un des symptômes de la maladie et il faut se faire tester . La vaccination contre le COVID-19 et aussi un moyen qui permet de réduire les complications de la maladie et le nombre de décès et minimisé la propagation de virus.

Références bibliographique :

1. Aleem A, Akbar Samad AB, Slenker AK. Emerging Variants of SARS-CoV-2 And Novel Therapeutics Against Coronavirus (COVID-19) [Updated 2022 May 12].

2. BERKANI, L., BELAID, B., DJIDJIK, R, 2020.COVID-19: Outils diagnostiques au laboratoire. Revue Algérienne d'allergologie, 05(1),(pp. 53-67).

3. Brookman s, Cook j, Zucherman m, Broughton s, Harman k et Gupta a. (2021).Effect of the New SARS-CoV-2 Variant B.1.1.7 on Children and Young People. Lancet Child Adolescence Health .

4. Bulut, C., & Kato, Y. (2020). Epidemiology of COVID-19. Turkish journal of medical sciences, 50(SI-1), 563-570.

5. Chan j f-w,Kok k-h, zhu z,chu h, to k k-w, yuan s et yuen a k-y.(2020).genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic cirinavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting wuhan. emerging microbes and infection.

6. Ciotti, M., Angeletti, S., Minieri, M., Giovannetti, M., Benvenuto, D., Pascarella, S., Sagnelli, C., Bianchi, M., Bernardini, S., & Ciccozzi, M. (2019). COVID-19 Outbreak: An Overview. Chemotherapy, 64(5-6), 215–223.

7. Coutard, B., Valle, C., de Lamballerie, X., Canard, B., Seidah, N. G., & Decroly, E. (2020). The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. Antiviral research, 176, 104742.

8. Davies, N. G., Abbott, S., Barnard, R. C., Jarvis, C. I., Kucharski, A. J., Munday, J. D., Pearson, C., Russell, T. W., Tully, D. C., Washburne, A. D., Wenseleers, T., Gimma, A., Waites, W., Wong, K., van Zandvoort, K., Silverman, J. D., CMMID COVID-19 Working Group, COVID-19 Genomics UK (COG-UK) Consortium, Diaz-Ordaz, K., Keogh, R., … Edmunds, W. J. (2021). Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. Science (New York, N.Y.), 372(6538).

9. Desjardins, Jessica (2010). Rôle des protéines accessoires du coronavirus humain OC43 Mémoire. Québec, Université du Québec, Institut National de la Recherche Scientifique, Maîtrise en virologie et immunologie, 128 p.

10. Etienne, D., & virginie, C. (2022). Covid :du diagnostic au contrôle de l'épidémie, la révolution du séquençage des virus, Consulté le 21 juin 2022. Disponible sur : https://theconversation.com/covid-du-diagnostic-au-controle-de-lepidemie-larevolution-du-sequencage-des-virus-175254

11. Faria, claro,candido et al. (2021). Genomic Characterisation of an Emergent SARS-CoV-2 Lineage in Manaus: Preliminary Findings—SARS-CoV-2 Coronavirus/NCoV-2019 Genomic Epidemiology. Disponible en ligne sur VIROLOGICAL.ORG.

12. Felipe naveca. (2020). SARS-CoV-2 Reinfection by the New Variant of Concern (VOC) P.1 in Amazonas, Brazil—SARS-CoV-2 Coronavirus/NCoV-2019 Genomic Epidemiology. Edimbourg.

13. Ferré, V. M., Peiffer-Smadja, N., Visseaux, B., Descamps, D., Ghosn, J., & Charpentier, C. (2022). Omicron SARS-CoV-2 variant: What we know and what we don't. Anaesthesia, critical care & pain medicine, 41(1), 100998.

14. Ghasemi, s. & Mousavizadeh, l., (2020). genotype and phenotype of covid-19. journal of microbiology,immunologyand infection.

15. Hamidouche, M. (2020). COVID-19 epidemic in Algeria: assessment of the implemented preventive strategy. medRxiv.

16. Hannoun D., Boughoufalah A., Meziani K., Lazazi A., Ait Oubelli K . Hellal H . Aouchar N. Rahal L. .,. (2020). Covid-19 : Situation épidémiologique Et évolution En Algérie. revue algerienne d'allergologie , 5 (1), 92-99.

17. Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. Cell, 181(2), 271–280.e8

18. Houriiyah Tegally1, E. W. (2021). Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa.

19. Jankowski, R. «Virus et épidémies virales dans la théorie métabolique de l'évolution.» Elsevier Masson France, 2020: 276.

20. Jamai Amir, I., Lebar, Z., yahyaoui, G., & Mahmoud, M. (2020). Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. Option/Bio, 31(619), 15–20.

21. Kannan, S. P. A. S., Ali, P. S. S., Sheeza, A., &Hemalatha, K, 2020. COVID-19 (Novel Coronavirus 2019)- recent trends. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci, 24(4).

22. Kin, N., & Vabret, A. (2016). Les infections à coronavirus humains [New therapies against HCV]. Revue francophone des laboratoires : RFL, 2016(487), 25–33.

23. Lotfi, M., Hamblin, M. R., & Rezaei, N. (2020). COVID-19: Transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry, 508, 254–266.

24. Lounis M. COVID-19 Vaccination in Algeria: The Starting Race. EJMO. 2021; 5(3): 279-280.

25. Menasria, T., & Aguilera, M. (2022). Genomic Diversity of SARS-CoV-2 in Algeria and North African Countries: What We Know So Far and What We Expect?. Microorganisms, 10(2), 467.

26. Nathan d grubaugh, petrone, m. e., & holmes, e. c. (2020). we should worry when a virus mutates during disease outbreaks. nature microbiologie.

27. Nelson, G., Buzko, O., Spilman, P., Niazi, K., Rabizadeh, S., & Soon-Shiong, P. (2021). Molecular Dynamic Simulation Reveals E484K Mutation Enhances Spike RBD-ACE2 Affinity and the Combination of E484K, K417N and N501Y Mutations (501Y.V2 Variant)Induces Conformational Change Greater than N501Y Mutant Alone, Potentially Resulting in an Escape.

28. Novel Coronavirus (COVID-19) Cases, provided by JHU CSSE. [En ligne]. (consulté le 24/06/2022)

29. Organisation mondiale de la Santé (2020). Détection des antigènes à l'aide de tests immunologiques rapides pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2 : orientations provisoires, 11 septembre 2020

Adresse url : https://apps.who.int/iris/handle/10665/334409
Consulté le: 04/06/2021

30. Organisation mondiale de la santé (2021). Suivi des variants du SARS-CoV-2

Adresse url : https://www.who.int/fr/news-room/questions-andanswers/item/coronavirus-disease-(covid-19)-variants-of-sars-cov-2
Consulté le: 23/06/2022

31. Ortiz-Prado, E., Simbaña-Rivera, K., Gómez-Barreno, L., Rubio-Neira, M., Guaman, L. P., Kyriakidis, N. C., Muslin, C., Jaramillo, A., Barba-Ostria, C., Cevallos-Robalino, D., Sanches-SanMiguel, H., Unigarro, L., Zalakeviciute, R., Gadian, N., & López-Cortés, A. (2020). Clinical, molecular, and epidemiological characterization of the SARS-CoV-2 virus and the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), a comprehensive literature review. Diagnostic microbiology and infectious disease, 98(1), 115094.

32. O'Toole, Á., Hill, V., Pybus, O. G., Watts, A., Bogoch, I. I., Khan, K., Messina, J. P., COVID-19 Genomics UK (COG-UK) consortium, Network for Genomic Surveillance in South Africa (NGS-SA), Brazil-UK CADDE Genomic Network.

33. Park w b,kwon n j, choi s j et al. (2020). Virus isolation from the first patient with SARS-COV-2 in korea. Journal of medical korean science,35(7),e84

34. Planas, D., Veyer, D., Baidaliuk, A., Staropoli, I., Guivel-Benhassine, F., Rajah, M. M., Planchais, C., Porrot, F., Robillard, N., Puech, J., Prot, M., Gallais, F., Gantner, P., Velay, A., Le Guen, J., Kassis-Chikhani, N., Edriss, D., Belec, L., Seve, A., Courtellemont, L., … Schwartz, O. (2021). Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. Nature, 596(7871), 276– 280.

35. Quemeneur, Marianne. (2008). Les processus biogéochimiques impliqués dans la mobilité de l'arsenic : recherche de bioindicateurs

36. Rambaut, a., loman, n., pybus, o., & al, w. b. (2020). Preliminary Genomic Characterisation of an Emergent SARS-CoV-2 Lineage in the UK Defined by a Novel Set of Spike Mutations SARSCoV-2 Coronavirus/NCoV-2019 Genomic Epidemiology.

37. Rambaut A., Holmes EC, Hill V., O'Toole Á., McCrone J., Ruis C., du Plessis L., Pybus OG a dynamic nomebclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. Nat. Microbiol. 2020;5:1403–1407.

38. Rojian lu, x. z. (2020). genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus:implication for virus origins and receptor binding. Lancet.

39. Salian, V. S., Wright, J. A., Vedell, P. T., Nair, S., Li, C., Kandimalla, M., Tang, X., Carmona Porquera, E. M., Kalari, K. R., & Kandimalla, K. K. (2021). COVID-19 Transmission, Current Treatment, and Future Therapeutic Strategies. Molecular pharmaceutics, 18(3), 754–771.

40. Salomon, J., & Worms, B, 2020) 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 diagnostiques ou de dépistage Version 3_ 07/10/2020.

41. Segondy M. (2020). Les Coronavirus humains [Human coronaviruses]. Revue francophone des laboratoires : RFL, 2020(526), 32–39.

42. Shang, J., Wan, Y., Luo, C., Ye, G., Geng, Q., Auerbach, A., & Li, F. (2020). Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 117(21), 11727–11734

43. Shereen, M. A., Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N., & Siddique, R, 2020. COVID- 19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. Journal of advanced research, 24, (pp.91-98).

44. Starr, T., Greaney, A., Hilton, S., Ellis, D., Crawford, K., Dingens, A., . . . al, e. (2020). Deep Mutational Scanning of SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain Reveals Constraints on Folding and ACE2 Binding cell.

45. Tegally, H., Lessells, R. R., Giandhari, J., Pillay, S., Tumedi, K. A., Nyepetsi, G., Kebabonye, M., Matsheka, M., Mine, M., Tokajian, S., … Kraemer, M. (2021). Tracking the international spread of SARS-CoV-2 lineages B.1.1.7 and B.1.351/501Y-V2 with grinch. Wellcome open research, 6, 121.

46. V'kovski P, kratzel a,steiner s,stalder h, & thiel volker. (2021). coronavirus biology and replication:implication of SARS COV 2. Nature reviews microbiology.19(3),155-170.

47. wan y,shang j, graham r,baricr s, et li f. (2020). receptor recognition by the novel coronavirus from wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. journal of virology.,94(7),e00127-20.

48. Weng, L. M., Su, X., & Wang, X. Q. (2021). Pain Symptoms in Patients with Coronavirus Disease (COVID-19): A Literature Review. Journal of pain research, 14, 147–159.

49. Wu F, Zhao s, yu b et al. (2020). a new coronavirus associated with human respiratory disease in china. nature.579,265-269

50. Yang, L., Liu, S., Liu, J. et al. COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics. Sig Transduct Target Ther 5, 128 (2020).

51. Yousef ali mohamadi, m. s. (2020). determine the most common clinical symptoms in COVID-19 patients:a systematic review and meta-analysis. journal of preventive medicine and hygiene .61(3),E304-312.

52. Zaki, A. M., van Boheemen, S., Bestebroer, T. M., Osterhaus, A. D., & Fouchier, R. A. (2012). Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. The New England journal of medicine, 367(19), 1814–1820

53. Zeghbib, S., Somogyi, B. A., Zana, B., Kemenesi, G., Herczeg, R., Derrar, F., & Jakab, F. (2021). The Algerian Chapter of SARS-CoV-2 Pandemic: An Evolutionary, Genetic, and Epidemiological Prospect. Viruses, 13(8), 1525.

54. Zhang T., Wu Q., Zhang Z. et al., (2020). Probable pangolin origin of SARSCoV-2 associated with the COVID-19 outbreak, Current biology, 30(7): 1346-1351.

55. Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., ... & Chen, H. D. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. nature, 579(7798), 270-273 .