

SOMMAIRE

ARRET DU CONSEIL SCIENTIFIQUE	i
LISTE DES RESPONSABLES ADMINISTRATIFS DE L'INSTITUT SUPERIEUR DES SCIENCES DE LA SANTE (IN.S.SA)	iii
DEDICACES	ix
HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY	xii
RESUME DE LA THESE	xx
SIGLES ET ABREVIATIONS	xxiii
LISTE DES TABLEAUX	xxvi
LISTE DES GRAPHIQUES ET/OU FIGURES	xxvii
INTRODUCTION ET PROBLEMATIQUE	2
I. GENERALITES	5
I.1. DEFINITION DE LA GRIPPE ET DES SYNDROMES GRIPPAUX	5
I.2. HISTORIQUE DE LA GRIPPE	5
I.3. PRINCIPAUX VIRUS RESPIRATOIRES	6
I.3.1. VIRUS INFLUENZA	7
I.3.2. PARAMYXOVIRUS	12
II. REVUE DE LA LITTERATURE	16
III. QUESTION DE RECHERCHE	24
III.1. QUESTION DE RECHERCHE	24
III.2. BUT DE L'ETUDE	24
IV. OBJECTIFS	26
IV.1. OBJECTIF GENERAL	26
IV.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES	26
V. MATERIEL ET METHODES	28
V.1. CADRE ET CHAMP DE L'ETUDE	28
V.1.1. Les sites de surveillance de la grippe	28

V.1.2. Le Centre National De Référence Pour La Grippe (CNRG) _____	29
IV.1.3. L’Institut d’Immunologie du Luxembourg _____	30
V.1.4. L’Unité Navale De Recherche Médicale Des USA «U.S. Naval Medical Research Unit N°3 » (NAMRU-3) au Caire, Egypte _____	30
V.1.5. La Direction Régionale de la Météorologie de Bobo-Dioulasso _____	31
V.2. TYPE ET PERIODE D’ETUDE _____	31
V.3. POPULATION D’ETUDE _____	31
V.4. ECHANTILLONNAGE _____	32
V.5. DESCRIPTION DES VARIABLES ETUDIEES _____	32
V.6. DEFINITIONS OPERATIONNELLES _____	33
V.7. COLLECTE DES DONNEES _____	33
V.8. ANALYSE DES ECHANTILLONS AU LABORATOIRE _____	35
V.8.1. Extraction de l’ARN viral _____	35
V.8.2. Préparation du MIX _____	37
V.8.3. L’amplification et la détection _____	37
V.9. ANALYSES DES DONNEES _____	39
VI. CONSIDERATIONS ETHIQUES _____	42
VII. RESULTATS _____	44
VII.1. CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION D’ETUDE _____	44
VII.2. CARACTERISTIQUES CLINIQUES DE LA POPULATION D’ÉTUDE _____	45
VII.3. LES VIRUS DETECTES DANS LA POPULATION D’ÉTUDE _____	46
VII.3.1. Proportion de chaque type et sous type de virus _____	46
VII.3.4. Distribution de chaque type de virus en fonction des périodes de l’année _____	50
VII.3.5. Impact des facteurs climatiques sur la circulation des différents virus _____	53
VII.4. RESULTAT DU CONTROLE DE QUALITE DU NAMRU-3 _____	54
VIII. DISCUSSION ET COMMENTAIRES _____	57
VIII.1. LES LIMITES ET LES CONTRAINTES DE L’ETUDE _____	57
VIII.2. LES CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION D’ETUDE _____	57
VIII.3. CARACTERISTIQUES CLINIQUES DE LA POPULATION D’ETUDE _____	58

VIII.4. LES TYPES DE VIRUS DETECTES DANS LA POPULATION D'ETUDE	60
VIII.4.1. Prévalence des types et sous types de virus respiratoires	60
VIII.4.2. Répartition en fonction du sexe et de l'âge	61
VIII.4.3. Répartition en fonction des périodes de l'année	63
VIII.4.4. Influence des facteurs climatiques sur la circulation des différents virus	65
CONCLUSION	67
SUGGESTIONS	69
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	71
ANNEXES	80

RESUME

RESUME DE LA THESE

Titre : Surveillance sentinelle des syndromes grippaux au Burkina Faso 2010-2013: investigation des virus respiratoires autres que l'influenza

Auteur : Charles SOUGUE ; email : souguecharles@gmail.com

Introduction : La surveillance épidémiologique des syndromes grippaux est à ses débuts au Burkina Faso. Notre étude est la première à rechercher les virus respiratoires autres que l'influenza dans les cas de syndromes grippaux.

Matériel et Méthodes : il s'agissait d'une surveillance sentinelle des syndromes grippaux dans six sites à Bobo-Dioulasso et à Ouagadougou de juillet 2010 à juin 2013. Des prélèvements oro-pharyngés ont été effectués chez des patients externes (d'âge:1 mois à 83 ans) présentant un syndrome grippal selon la définition de l'OMS (fièvre $\geq 38^{\circ}\text{C}$ et toux et/ou des maux de gorge, en l'absence d'autre diagnostic). Les autres virus respiratoires, ont été recherchés dans les échantillons négatifs au virus influenza par RT-PCR nichée en temps réel avec l'aide de l'Institut d'Immunologie du Luxembourg.

Résultats : Sur 1036 cas suspects de syndromes grippaux enrôlés, nous avons enregistré 11,1% (115/1036) de cas positifs à l'Influenza. Parmi les 921 cas négatifs, un échantillonnage de 796 spécimens a été effectué. Cinq autres virus respiratoires ont été détectés chez 13,7% des cas (109/796) : le Virus respiratoire syncytial (VRS) dans 5,78% des cas ; le Métapneumovirus humain (MPVH) dans 3,27% des cas ; le virus Parainfluenza de type 3 (PIVH3) dans 2,64% des cas ; le PIVH2 dans 1,13% des cas et le PIVH1 dans 0,88% des cas. Chez ces 796 patients, les symptômes majeurs étaient la toux (97,48%) et la fièvre (93,08 %). Certains virus étaient plus fréquents chez les sujets jeunes (MPVH et PIV3). Certains facteurs climatiques et les périodes de l'année avaient un impact sur la circulation d'autres virus respiratoires (MPVH).

Conclusion : Cette étude a été la première à confirmer la circulation des autres virus respiratoires (VRS, MPVH, VPIH1, VPIH2, et VPIH3) dans les sites sentinelles de surveillance des syndromes grippaux au Burkina Faso.

Mots clés : Burkina Faso, syndromes grippaux, Surveillance sentinelle, virus respiratoires autres que l'influenza, facteurs climatiques.

ABSTRACT

Title: Sentinel surveillance of influenza-like illness in Burkina Faso 2010-2013: investigation of respiratory viruses other than Influenza

Author: Charles SOUGUE; email: souguecharles@gmail.com

Introduction: Epidemiological surveillance of influenza-like illness is just implementingin Burkina Faso. Our study is the first to detectthe respiratory viruses other than influenza in cases of influenza-like illness.

Materials and Methods: We conducted sentinel surveillance of influenza-like illness in six sites in Bobo-Dioulasso and Ouagadougou from July 2010 to June 2012. Oro-pharyngeal samples were collected in outpatients (age: 1 month to 83 years) with influenza-like illness according to WHO/CDC definition (fever $\geq 38^{\circ}\text{C}$ and cough and/or sore throat, in the absence of other diagnosis). Other respiratory viruses were investigated in influenza virus negative samples by nested real time RT-PCR with the technical support of the Institute of Immunology of Luxembourg.

Results: From 1036 suspected cases of influenza-like illness, Influenza virus was positive in 11.1% (115/1036) of cases. A prevalence of 13.7% (109/736) of five other respiratory viruses were detected in 796 influenza negative samples: the respiratory syncytial virus (RSV) in 5.78% of the cases; the human metapneumovirus (HMPV) in 3.27% of the cases; the Para influenza virus 3 (PIV3) in 2.64% of cases; the PIV2 in 1.13% of the cases and the PIV1 in 0.88% of the cases. The major symptoms in these 796 outpatients were fever (93.08%) and cough (97.48%). The circulation of two viruses (HMPV and PIV3) was clearly linked to patients' age. Some climatic impacted the occurrence of the HMPV.

Conclusion: This study was the first to confirm the circulation of other respiratory viruses (RSV, HMPV, PIV1, PIV2, and PIV3) in sentinel surveillance sites of influenza-like illness in Burkina Faso.

Key words: Burkina Faso, Influenza-like illness, Sentinel surveillance, respiratory viruses other than Influenza, climatic factors.

**SIGLES ET
ABREVIATIONS**

Rapport-Giftit.com

SIGLES ET ABREVIATIONS

AA	: Accoucheuse auxiliaire
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AIS	: Agent itinérant de santé
AN	: Acide nucléique
Ac	: Anticorps
Ag	: Antigène
ARN	: Acide ribonucléique
Buffer AVE	: Elution viral buffer
Buffer AVL	: Lysis viral buffer
Buffer AW	: Wash buffer
°C	: Degré Celsius
CDC	: Center for diseases control
CMA	: Centre médical avec antenne chirurgicale
CNR	: Centres nationaux de référence
CNR	: Centre National de Référence
CNRG	: Centre National de Référence pour la Grippe
CPK	: Créatine-Phospho-Kinase
CSPS	: Centre de Santé et de Promotion Sociale
DLM	: Direction de Lutte contre la Maladie
EISS	: European Influenza Surveillance Scheme (plan européen de surveillance de la grippe)
FFP2	: Filtering Face-piece Particles
Flu	: Influenza
GROG	: Groupes régionaux d'observation de la grippe
HA ou H	: Hémagglutinine
HEF	: hémagglutinine-estérase-facteur
IEC	: Information Education Communication
IF	: Immunofluorescence
IHA	: Inhibition d'hémagglutination
INSSA	: Institut Supérieur des Sciences de la Santé

IRAS	: Infection Respiratoire Aiguë Sévère
IRSS	: Institut de Recherche en Sciences de la Santé
m/s	: mètre par seconde
max.	: maximale
MPV ou HMPV ou MPVH	: métapneumovirus humain.
MDCK	: Madin-Darby canine kidney
Mini	: minimale
Mm	: millimètre
MTV	: Milieux de Transport Viraux
NA	: Neuraminidase
NEP	: Nuclear Export Proteins (Protéines d'export nucléaire)
OMA	: Otite Moyenne Aiguë
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
ORL	: Oto-rhino-laryngologie
PA	: Protéine Acide
PB	: Protéine Basique
PCR	: Polymérase Chain Reaction
Pdm	: Pandémique
PIV ou VPIH ou HPIV	Parainfluenzavirus humain
rt RT-PCR	: real time RT-PCR
RT-PCR	: Reverse Transcriptase PCR
Sec	: seconde
SG	: Syndrome Grippal
SIDA	: Syndrome de l'Immunodéficience Acquise
TDR	: Test de Diagnostic Rapide
VIH	: virus de l'immunodéficience humaine
VRS ou RSV	: Virus respiratoire syncytial
WHO	: World Health Organisation (organisation mondiale de la santé)

**LISTE DES TABLEAUX
ET DES FIGURES**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Principales pandémies grippales connues (Source : Potter CW, 2006) _____ 6

Tableau II: Répartition par site de la population d'étude----- 44

Tableau III : Distribution de chaque type et sous type de virus en fonction du sexe _____ 47

LISTE DES GRAPHIQUES ET/OU FIGURES

<i>Figure 1 : Représentation schématique de la structure du virus influenza</i>	8
<i>Figure 2 : Classification des membres de la famille des Paramyxoviridae (A) et Structure schématique d'un paramyxovirus(B) (Source : Dutch, 2010)</i>	13
<i>Figure 3: Carte du Burkina Faso représentant les sites de l'étude.</i>	30
<i>Figure 4 : Méthode de prélèvement oropharyngé (à gauche) et nasopharyngé (à droite).</i>	34
<i>Figure 5 : Courbe représentant un résultat positif de RT-PCR à temps réel pour la détection des virus influenza.</i>	38
<i>Figure 6: Courbe représentant un résultat négatif de RT-PCR à temps réel pour la détection des virus influenza</i>	38
<i>Figure 7 : Fréquence des signes cliniques de la population d'étude</i>	45
<i>Figure 8 : Proportions de chaque type et sous types de virus respiratoires</i>	46
<i>Figure 10 : Distribution du HMPV en fonction des tranches d'âge</i>	48
<i>Figure 11 : Distribution du VPIH1 en fonction des tranches d'âge</i>	49
<i>Figure 12 : Distribution du VPIH2 en fonction des tranches d'âge</i>	49
<i>Figure 13 : Distribution du VPIH3 en fonction des tranches d'âge</i>	50
<i>Figure 14 : Distribution du VRS en fonction des périodes de l'année</i>	51
<i>Figure 15 : Distribution du MPVH en fonction des périodes de l'année</i>	51
<i>Figure 16 : Distribution du VPIH1 en fonction des périodes de l'année</i>	52
<i>Figure 17 : Distribution du VPIH2 en fonction des périodes de l'année</i>	52
<i>Figure 18: Distribution du PIV3 en fonction des périodes de l'année</i>	53
<i>Figure 19: Répartition des différents virus détectés par le NAMRU-3</i>	55

INTRODUCTION ET PROBLEMATIQUE

INTRODUCTION ET PROBLEMATIQUE

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), les maladies infectieuses sont l'une des principales causes de consultation, de morbidité et de mortalité dans le monde. En effet, les infections respiratoires font partie des premières étiologies de mortalité en particulier chez les jeunes enfants dans de nombreux pays surtout Africains [1, 2].

Les étiologies des infections respiratoires aiguës (IRA) sont surtout bactériennes et virales. Dans les pays développés, ces étiologies sont bien connues. Ce qui n'est pas le cas en Afrique en général et plus particulièrement au Burkina Faso où les étiologies virales sont encore méconnues. Parmi ces étiologies virales, le virus influenza occupe une grande place. Il est responsable de la Grippe humaine [1, 2].

L'OMS définit la grippe humaine comme une infection virale qui touche principalement le nez, la gorge, les bronches, et éventuellement les poumons. Elle se manifeste par un syndrome grippal (SG) ou syndrome pseudo grippal qui se caractérise par l'apparition brutale d'une forte fièvre, des myalgies, des céphalées, un mauvais état général, une toux sèche, une gorge irritée et une rhinite [1, 2].

Les syndromes grippaux peuvent entraîner un problème de santé publique avec de graves conséquences économiques. En dehors de l'absentéisme au travail et des pertes de productivité, l'OMS estime qu'ils sont responsables d'environ trois à cinq millions de cas de maladies graves, et 250 000 à 500 000 décès par an au niveau mondial [1, 2].

Les SG ont toujours été une préoccupation sanitaire depuis Hippocrate [3, 4] jusqu'au XXème siècle [5, 6]. En Avril 2009, a été découverte la grippe porcine qui est due à un virus influenza A (H1N1) pandémique totalement inédit qui résulte de réassortiments génétiques complexes. Le caractère génétique très évolutif du virus grippal est à l'origine de mutations et réassortiments génétiques qui créent d'autres nouveaux virus conduisant ainsi à des pandémies ; d'où la nécessité d'une surveillance épidémiologique des syndromes grippaux pour ainsi déterminer les virus responsables. C'est dans cette optique que l'OMS a décidé de renforcer la surveillance épidémiologique à travers un réseau mondial de surveillance de la grippe (Global Influenza Surveillance Network : GISN) qui a été créé depuis 1952. En effet, deux notions nosologiques sont surveillées : les SG chez les patients externes et les infections respiratoires aigües sévères (IRAS) chez les patients hospitalisés.

Après la pandémie de 2009, le bureau régional de l'OMS a renforcé la surveillance des SG dans le contexte de la stratégie de la Surveillance Intégrée des Maladies et de la Réponse (SIMR). De nombreux pays ont mis donc en place la surveillance des SG [5, 7-9]. C'est le cas du Japon où on trouva une prévalence de 100% de l'influenza [10] ; du Pakistan (24%) [11] ; du Maroc, 3% de 2007-2009 [12] et 37% de 2009 à 2010 [13] ; et de la Tunisie (70%) [14]. Des résultats presque similaires ont été obtenus en Côte d'Ivoire [15], au Cameroun [16], au Nigeria [17], au Kenya [18], au Togo [19], en Ethiopie [20] ; à Madagascar [21], en Sierra Léone [22] et en République démocratique du Congo [23].

Même si le rôle de l'influenza est très important, au regard de ces résultats très variées d'une région à l'autre, il n'en demeure pas moins que d'autres virus pourraient être associés à la survenue des SG. Ainsi il a été rapporté une prévalence de 3% du métapneumovirus humain (MPVH) chez les cas de SG en Allemagne [24] ; 3,2% du virus para influenza humain (VPIH) en Amérique centrale et du Sud ; 12,5% du Virus respiratoire syncytial (VRS) en zone rurale et 11,7% en zone urbaine au Kenya [25] ; 24% du VRS, 18% du rhinovirus, 16% du virus influenza, 16% du VPIH en Côte d'Ivoire [15].

A l'opposé de ces pays, le Burkina Faso disposait de peu de données sur les syndromes grippaux. Mais avec l'avènement de la grippe pandémique en 2009, la surveillance de l'influenza s'est accrue et sert d'appui à l'investigation des autres virus respiratoires dans certains pays.

Il a été alors créé au Burkina Faso en 2009 un Centre National de Référence pour la Grippe(CNRG) par le Ministère de la Santé (Arrêté ministériel n° 2009-100/MS/CAB du 18 mai 2009) qui a mis en route une surveillance sentinelle de cette maladie à partir de 2010. Les résultats préliminaires de la première année de cette surveillance ont déterminé une prévalence de 6,8% pour l'influenza [26].

Notre travail a consisté à investiguer les virus respiratoires, autres que l'influenza, pouvant entraîner des syndromes grippaux dans les sites sentinelles de surveillance au Burkina Faso. Après les généralités, nous énumérerons nos objectifs, ensuite nous aborderons la méthodologie, puis nous présenterons les résultats qui seront discutés.

I.GENERALITES

I. GENERALITES

I.1. DEFINITION DE LA GRIPPE ET DES SYNDROMES GRIPPAUX

La grippe humaine est une maladie virale aiguë, fréquente, très contagieuse, généralement bénigne, mais souvent mortelle. Elle évolue sur un mode épidémique et pandémique et est due à *Myxovirus influenzae* [1, 2, 27].

Sa symptomatologie connue sous le nom de syndrome pseudo-grippal ou syndrome grippal se caractérise par l'apparition brutale d'une forte fièvre, un mauvais état général, des céphalées, des myalgies, une toux sèche, un mal de gorge et une rhinite... [1, 2, 27]

I.2. HISTORIQUE DE LA GRIPPE

La grippe a existé depuis HIPPOCRATE [3, 4]. Au 14^{ème} siècle, à Florence, fut proposé le terme de « *influenza di freddo* » qui signifie Influenza causé par le froid. Plusieurs épidémies marquèrent l'histoire de la grippe et se caractérisèrent par leur mortalité élevée et leur gravité surtout chez les personnes d'âge extrêmes. Selon l'historien August Hirsch, il y a eu au moins 94 épidémies entre 1173 et 1875 dont plus de 15 étaient des pandémies. On peut citer en outre les épidémies de 1880-1890 et de 1900 [4, 5, 28].

En 1918, la grippe Espagnole fit plus de victimes que les 4 années de la Grande guerre : au moins 20 millions de morts dans le monde [5, 6]. Certains parlent de 40-50 millions de morts [4, 29] ; et d'autres estiment à 50-100 millions de morts [30, 31].

En 1931, le 1^{er} virus grippal porcin a été isolé par SHOPE aux USA. En 1933, SMITH, ANDREWES ET LAIDLOW isolèrent le 1^{er} virus de la grippe humaine à Londres. En 1940, un virus grippal fut identifié et nommé B, pour le différencier du précédent qui devient donc le type A. Le virus C fut identifié en 1947 [5, 28].

L'année 1947 fut marquée par une sévère pandémie dite « grippe italienne » due à un virus qui a subi un important glissement antigénique et fut nommé A1. En 1957, la « grippe Asiatique » avait occasionné 2 à 3 millions de morts dans le monde. Le virus responsable fut d'abord nommé A2 puis devint le type A(H2N2) par la suite. Par ailleurs en 1968, une pandémie (grippe de Hong-Kong) due à un nouveau virus de type A(H3N2) avait engendré un million de morts [5, 28].

En 1997 à Hong Kong, les premiers cas d'infection humaine au virus aviaire A(H5N1) ont été décrits chez 18 personnes dont 6 décès. Entre 2003 et 2008, plusieurs cas de grippe aviaire ont été notés dont 241 décès humains dus au virus H5N1 [5, 8, 32-35]. En avril 2009 au Mexique et aux Etats Unis d'Amérique, on a assisté à la survenue de la grippe porcine (ou nord-américaine) due à un virus pandémique inédit qui résulte de réassortiments génétiques complexes. Plus de 214 pays ont confirmé près de 399 232 cas avec plus de 18 337 décès [4, 36], (Tableau I).

Tableau I: Principales pandémies grippales connues (Source : Potter CW, 2006)

Pandémie	Date	Décès (mondial)	Sous-type impliqué
Grippe asiatique (russe)	1889–1890	1 million	A(H2N2)
Grippe espagnole	1918–1920	Plus de 50 millions	A(H1N1)
Grippe asiatique	1957–1958	2-4 millions	A(H2N2)
Grippe de Hong Kong	1968–1969	750 000 à 1 million	A(H3N1)
Grippe A (H1N1)	2009–2010	18 337	A(H1N1)

La grippe a causé beaucoup de décès à travers le monde par des épidémies et pandémies. La grippe saisonnière est généralement bénigne mais peut s'avérer dangereuse surtout chez les personnes d'âge extrême. Elle se manifeste par le syndrome grippal qui est le mode d'expression de plusieurs infections aux virus respiratoires qu'il convient de connaître.

I.3. PRINCIPAUX VIRUS RESPIRATOIRES

Il existe plusieurs types de virus respiratoires pouvant être responsables de syndromes grippaux. Nous avons principalement le virus influenza et les paramyxovirus dont le Virus respiratoire Syncytial (VRS), le Métapneumovirus Humain (MPVH), les Virus Para influenza (VPIH). Cependant, de nombreux autres virus peuvent causer des infections respiratoires qu'elles soient symptomatiques ou asymptomatiques. On peut citer entre autres : les rhinovirus, les bocavirus, les coronaviruses, les adénovirus, les entérovirus [37, 38].

I.3.1. VIRUS INFLUENZA

I.3.1.1. Définition, Classification, Nomenclature

Le *Myxovirus influenzae* est un virus enveloppé à ARN segmenté, de polarité négative, appartenant à la famille des *orthomyxoviridae* qui comporte 5 genres : Influenzavirus A, Influenzavirus B, Influenzavirus C, Isavirus et Thogotovirus.

Le genre Isavirus infecte les poissons et le genre Thogotovirus infecte les parasites des poissons. Les trois autres genres d'influenzavirus A, B et C, sont responsables de la grippe humaine, mais seuls les genres A et B sont responsables d'épidémie. Ils se distinguent sur la base de l'antigénicité de leur nucléoprotéine. Le virus A comprend plusieurs sous-types qui se distinguent sur la base de leurs Antigène(Ag) de surface appelés Hémagglutinine (HA ou H) et Neuraminidase (NA ou N). Il existe de nos jours 17 types de HA et 10 types de NA. Plusieurs combinaisons entre les différents types d'HA et de NA sont possibles. Il serait donc possible d'avoir environ 170 sous-types de virus influenza A dans le monde, mais seuls environ 80 ont été découverts par les chercheurs. Les types de HA et de NA pouvant se combiner pour donner naissance aux sous-types pathogènes pour les humains sont : H1, H2, H3, H5, H7, H9 et N1, N2 et N9.

Les souches virales sont dénommées selon : Type/Hôte d'origine si non humain/Lieu d'origine/Numéro d'enregistrement/année d'isolement/HxNx.

Exemple : A/Brisbane/59/2007/ H1N1.

I.3.1.2. Morphologie et structure du virus influenza

Les virus influenza sont enveloppés, arrondis, de forme ovale, mesurant un diamètre de 80-120 nm et sont rarement filamenteux. Le génome viral est constitué de 8 segments monocaténaires pour les virus A et B et 7 segments pour le virus C. La matrice recouvre la face interne de l'enveloppe virale qui est lipidique et provient de la membrane cytoplasmique de la cellule hôte. Elle est tapissée de spicules glycoprotéiques qui représentent les HA et les NA[31], (Figure 1).

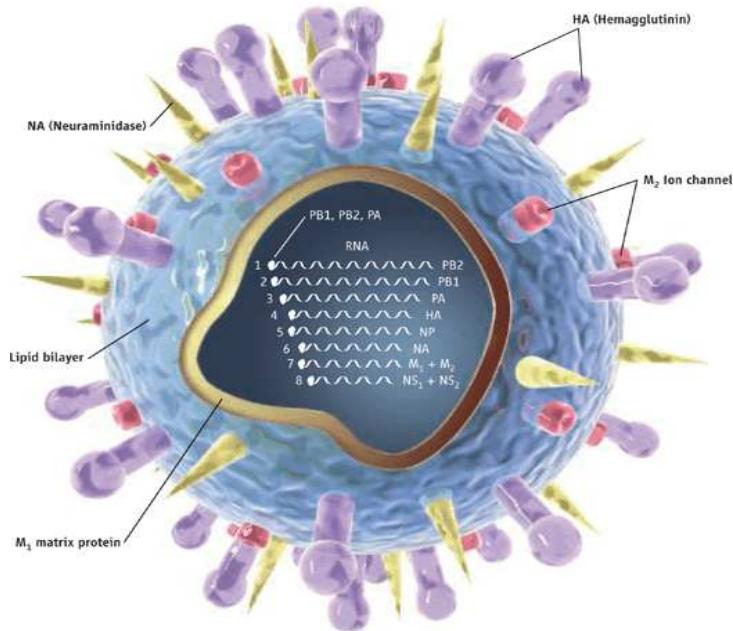


Figure 1 : Représentation schématique de la structure du virus influenza

(Source : Seth J. Sullivan, 2010)

I.3.1.3. Caractères antigéniques du virus influenza

- Les antigènes internes sont : la Nucléoprotéine (NP) qui est un antigène soluble permettant de caractériser le type viral ; la protéine M (matrice ou membrane) ; et les polymérases.
- Les antigènes externes (de l'enveloppe) sont : Hémagglutinine (HA ou H) ; la Neuraminidase (NA ou N), l'antigène polysaccharidique de l'hôte.
- Il faut noter que des variations antigéniques sont possibles :
- les variations progressives ou mineures ou glissement antigénique (Mutations ou antigenic drift) : Observées chez les types A et B, elles surviennent dans une population immunisée et sont responsables d'épidémies hivernales annuelles.
- les variations majeures, brutales ou saut antigénique (antigenic shift) : elles sont discontinues et font émerger des nouveaux virus contre lesquels les populations sont sans défense immunologique, provoquant ainsi des pandémies.

I.3.1.4. Epidémiologie de la grippe

Il existe deux modes d'évolution de la maladie :

- les épidémies saisonnières sont les plus fréquentes. Les sous types les plus souvent rencontrés sont le virus influenza A (H1N1) pdm09 et l'influenza A(H3N2) saisonnier.
- Les pandémies grippales surviennent lors de l'émergence de souches virales nouvelles et hautement contagieuses. Selon l'OMS, la pandémie évoque une épidémie d'extension mondiale en un temps relativement court [39].

La manifestation du virus grippal, surtout du type A, est fonction des saisons [40].

Le caractère pandémique de la grippe impose une surveillance épidémiologique et une collaboration internationale pour une bonne lutte. Depuis 1950, l'OMS a mis en place le GISN (Global Influenza Surveillance Network). Ce système a beaucoup évolué en Europe [41], mais a été seulement récemment renforcée en Afrique [5, 7-9].

I.3.1.5. Pathogénie de l'influenza

I.3.1.5.1. Physiopathologie

La pénétration du virus dans l'organisme se fait par voie nasopharyngée, suite à l'inhalation de gouttelettes de sécrétions rhinopharyngées de malades en suspension dans l'air. La réPLICATION virale se fait dans le nasopharynx (maximum en 48h et se poursuit pendant 6-8 jours). La NA abaisse la viscosité du flux muqueux, détruit les récepteurs cellulaires (cellules à mucus et cellules ciliées), favorise la propagation du virus dans les voies respiratoires supérieures et l'écoulement des sécrétions infectées vers les voies respiratoires inférieures. L'élimination virale se fait dans les sécrétions nasopharyngées 1 à 2 jours après le début des symptômes.

I.3.1.5.2. Sémiologie de l'influenza

I.3.1.5.2.1. Type de description : grippe commune de l'adulte jeune

- La période d'incubation est brève de l'ordre de 24 à 72 heures.
- Le début est très brutal avec installation d'emblée du **syndrome grippal** : fièvre élevée (souvent $\geq 38^{\circ}\text{C}$), frissons, malaise général, asthénie, douleurs diffuses.
- La phase d'état se caractérise par la persistance de l'altération de l'état général, du syndrome douloureux et l'apparition d'un syndrome catarrhal des voies respiratoires

supérieures d'intensité variable. Il peut exister une hyperhémie conjonctivale, une rhinorrhée, un énanthème pharyngé, une laryngite avec une toux sèche et douloureuse.

- L'examen physique est sans particularités en dehors de quelques râles bronchiques. Les examens paracliniques montrent une radiographie pulmonaire normale ou subnormale avec de discrètes opacités hilifuges hétérogènes. L'hémogramme (inutile en pratique) pourrait montrer un aspect normal, une leucocytose, une lymphopénie ou une polynucléose même en l'absence de surinfection bactérienne.

- L'évolution est rapidement résolutive avec disparition de la fièvre et de l'ensemble des signes d'accompagnement en l'espace de 2 à 4 jours ; une petite réascension thermique passagère réalise le classique « V » grippal. Des complications peuvent survenir surtout chez les personnes à risque. Les facteurs de mauvais pronostic sont : âges extrêmes (avant 12mois et après 65ans) ; la grossesse ; les cardiopathies ou broncho-pneumopathies chroniques.

I.3.1.5.2.2. Formes cliniques

- **Les formes symptomatiques :** formes atténuées, pleuro pulmonaires, ou trompeuses.
- **Les formes compliquées :** formes respiratoires, ORL, neurologiques ou cardiaques.
- **Les formes selon le terrain :** le risque de complications est élevé chez l'enfant, les personnes âgées, la femme enceinte, les immunodéprimés et chez le diabétique.

I.3.1.5.2.3. Diagnostic

I.3.1.5.2.3.1. Diagnostic positif

- Arguments épidémiologiques : notion de contage, de cas similaire, d'épidémie.
 - Arguments cliniques : C'est le syndrome grippal (pseudo grippal).
 - Arguments para cliniques : l'intérêt est surtout dans la surveillance épidémiologique.
- *Diagnostic direct : plusieurs techniques existent, mais actuellement c'est le diagnostic moléculaire (détection de l'ARN viral par RT-PCR) qui est l'outil de choix en raison de la rapidité, sensibilité et spécificité.
- *Diagnostic indirect : Consiste à rechercher une augmentation significative du titre d'anticorps (Ac) sur 2 prélèvements pris à 15jours d'intervalle.

I.3.1.5.2.3.2. Diagnostic différentiel

- Les autres infections virales : VPIH, HMPV, VRS, adénovirus, rhinovirus...
- Les infections bactériennes : Pyélonéphrite, bactériémie, septicémie...
- Les infections parasitaires comme le paludisme.
- Certaines affections non infectieuses comme l'allergie.

I.3.1.5.2.4. Traitement

I.3.1.5.2.4.1. Traitement curatif

-But :

Il consiste à éviter les complications et à réduire la transmission.

-Moyens

***Moyens du traitement étiologique :** Nous avons les **inhibiteurs de la protéine M2** (Amantadine) qui sont actifs seulement sur le type A, mais sont mal tolérés ; et les **inhibiteurs de la neuraminidase** (Oseltamivir, Zanamivir) qui sont mieux tolérés et actifs sur les types A et B.

***Moyens du traitement symptomatique :** Il s'agit du Repos, la bonne hydratation, les antipyrétiques et la prise en charge correcte d'une affection chronique sous-jacente.

***Autres moyens :** Antibiotiques, Réanimation...

-Indications

***Forme commune :** le traitement symptomatique est suffisant.

***Forme du sujet à risque :** il faut associer un traitement antiviral.

***Formes compliquées :** il faut associer une bonne prise en charge de la complication.

I.3.1.5.2.4.2. Traitement preventif

- Mesures générales

Il s'agit de l'isolement des malades ; le port de masque pour les patients, le personnel soignant et les visiteurs ; l'hygiène de la toux ; le nettoyage des objets souillés ainsi que les surfaces de contact et la désinfection systématique des mains [42, 43].

- Chimioprophylaxie post exposition par antiviraux

L'utilisation de l'oseltamivir (Tamiflu®) sur une durée de 7 jours dans les 48 heures suivant l'exposition est efficace à près de 90% des cas. Elle est indiquée chez les sujets contacts âgés de plus de 13 ans et ayant au moins un des facteurs de risque énumérés plus haut. L'association du vaccin est recommandée en cas de chimioprophylaxie.

- Vaccination

Elle est indiquée chez les sujets suivants : âgé de plus de 65 ans ; présentant une affection respiratoire ou rénale chronique ; drépanocytaire ; diabétique non équilibré ; immunodéficients et les personnes en contact avec des sujets à risque [44, 45].

I.3.2. PARAMYXOVIRUS

I.3.2.1. CARACTERISTIQUES GENERALES

La famille des *Paramyxoviridae* appartient à l'Ordre des *Mononegavirales* qui comprend 2 autres familles de virus à ARN monocaténaires de polarité négative

Ce sont des virus sphériques, très pléomorphes de 150-400 nm. Leur nucléocapside tubulaire à symétrie hélicoïdale : le génome est un ARN négatif. L'enveloppe est recouverte de spicules glycoprotéiques (Figure 2.A et 2.B) [46].

Les infections respiratoires dues à ces virus sont souvent asymptomatiques mais donnent en général un syndrome pseudo grippal. Le diagnostic différentiel avec les infections au virus influenza est impossible cliniquement, et se fait au laboratoire. La transmission se fait par voie aérienne, au contact des sujets infectés [47].

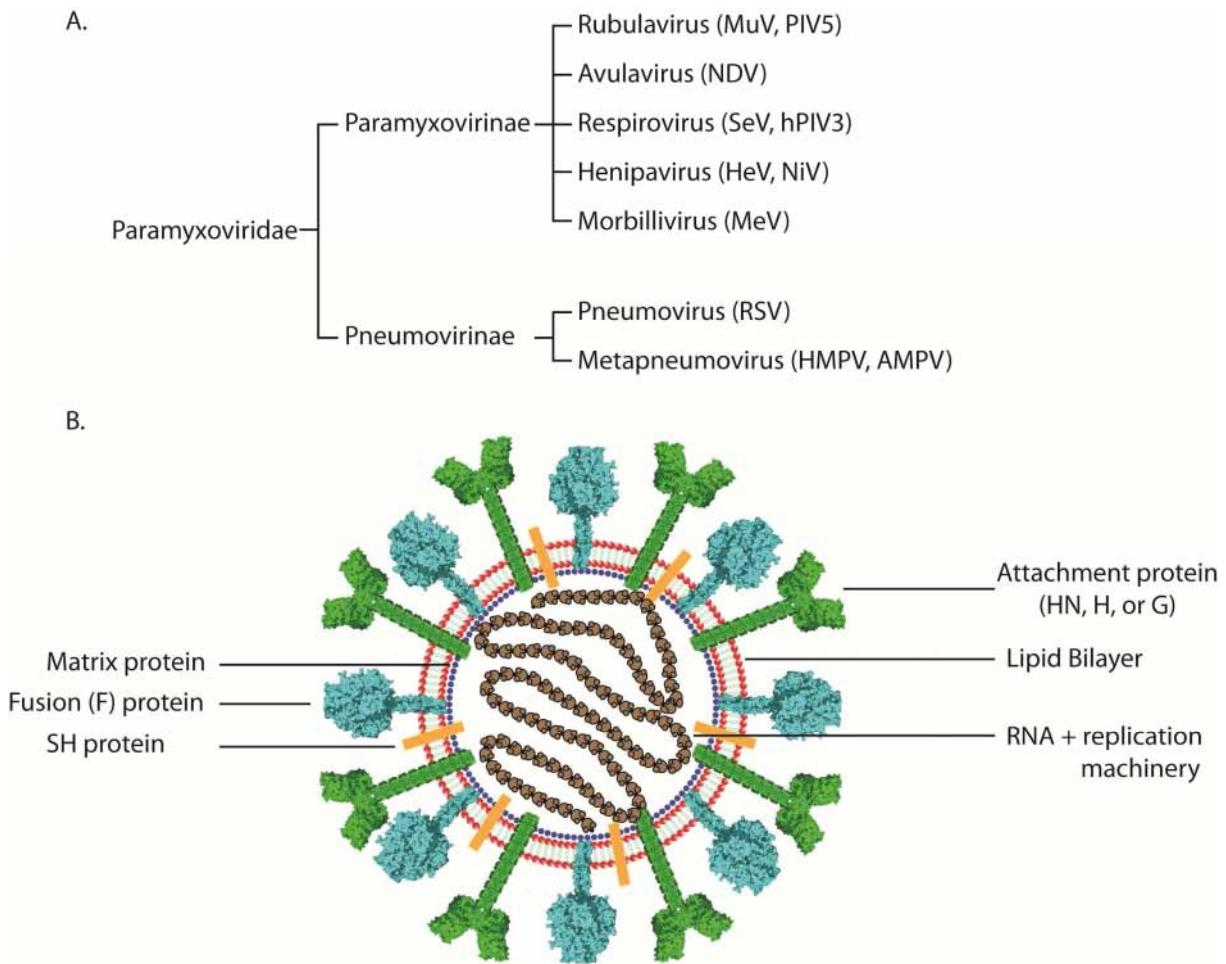


Figure 2 : Classification des membres de la famille des *Paramyxoviridae* (A) et Structure schématique d'un paramyxovirus(B) (Source : Dutch, 2010)

I.3.2.2. Principaux virus

I.3.2.2.1. Virus respiratoire syncytial (VRS)

C'est un virus spécifiques d'hôtes, très fragiles. Le virus humain est classé en 2 groupes : A et B. Il se réplique au niveau de l'appareil respiratoire. Il sévit par épidémies hivernales chez les jeunes enfants. Seul le diagnostic direct a un intérêt chez l'humain et se fait par isolement en culture cellulaire avec un effet Cyto pathogénique (ECP) caractéristique (cellules géantes multinucléées ou syncytial), par ELISA ou par RT-PCR [48, 49].

La prévention repose sur l'isolement des enfants atteints. Le traitement est surtout symptomatique sauf dans les formes sévères : Ribavirine en aérosols (Virazole*) ou injection d'anticorps spécifique monoclonal en prévention (Palivizumab ou Synagis*).

I.3.2.2.2. Virus para influenza humain (VPIH)

C'est un virus possédant des hémagglutinines. Les HPIV-1 et HPIV-3 sont strictement humains. Le diagnostic direct se fait par isolement du virus en culture cellulaire ; détection des Ag viraux par IF ; du génome viral par RT-PCR. Le diagnostic indirect se fait par détection des Anticorps spécifiques généralement par ELISA pour le diagnostic rétrospectif. Il n'existe pas de vaccin ; le traitement est symptomatique [50-53].

I.3.2.2.3. Le métapneumovirus humain(MPVH)

Le Métapneumovirus humain est un virus voisin mais différent du VRS, et est responsable de syndrome grippal surtout chez le nourrisson. Il est ubiquitaire, comme le VRS, mais plus difficile à isoler en culture cellulaire (d'où sa découverte tardive en 2001) et son principal test de détection est la RT-PCR [49, 54-59].

II. REVUE DE LA LITTÉRATURE

II. REVUE DE LA LITTÉRATURE

La surveillance épidémiologique de la grippe est une priorité de l'OMS depuis les années 1952. Elle a été renforcée surtout sur le plan mondial pendant la période post pandémique de 2009.

C'est ainsi qu'au Japon, de 2009 à 2011, une surveillance virologique basée l'analyse par RT- PCR des prélèvements de patients présentant des syndromes grippaux a montré que seul le virus influenza A(H1N1)pdm09 circulait pendant la période pandémique ; pourtant plusieurs types et sous types de virus circulaient pendant la période post pandémique de 2010-2011. Sur 1278 cas de syndromes grippaux échantillonnés, 414 (42,6%) étaient positifs au virus A (H1N1)pdm09 ; 525 (54,0%) étaient positifs à l'influenza A(H3N2) et 33 (3,4%) étaient positifs au virus influenza B. Une analyse séquentielle et phylogénétique a montré une évolution supplémentaire des virus de la période post pandémique par rapport au virus influenza A (H1N1)pdm09. Cette étude a confirmée donc la circulation de l'influenza pendant la période post pandémique au Japon [10].

Au Pakistan, de janvier 2008 à décembre 2011, une surveillance virologique réalisée dans 5 sites sentinelles et basée sur l'analyse par RT- PCR des prélèvements de patients présentant des syndromes grippaux a rapporté que sur 6258 cas échantillonnés et analysés, une prévalence de 24% a été enregistrée pour l'influenza. Parmi ces cas positifs, 72% (1066) étaient dus à l'influenza de type A et 28% (423) à l'influenza de type B. Parmi les virus influenza A, 25 (2%) cas étaient du A(H1N1) saisonnier ; 169 (16%) du A(H3N2) et 872 (82 %) étaient le sous-type A(H1N1)pdm09. L'influenza B et les quelques cas du virus A(H1N1)saisonnier ont été détectés tout le long de la période d'hiver et du printemps; et la circulation du virus A(H3N2) a été principalement observée pendant l'été (août à octobre) [11].

Plusieurs études s'étaient seulement intéressées à l'influenza, l'association des autres virus respiratoires aux syndromes grippaux n'était pas d'actualité.

Cependant, une étude a été réalisée d'octobre 2000 à mai 2001 en Finlande et a concerné les syndromes grippaux chez les enfants de moins de 13ans. Sur 1338 cas échantillonnés par prélèvement nasopharyngé, Le MPVH a été détecté par RT-PCR dans 3,5% (47) des cas, et les enfants de moins de 2 ans étaient les plus touchés [55].

Au Brésil, en 2002, une étude a été réalisée chez les enfants de moins de 3 ans présentant des syndromes grippaux. L'analyse par PCR des prélèvements nasopharyngés de 111 cas a détecté le VRS dans 48% (53/111) des cas ; le MPVH dans 17% (19 /111) des cas et une coinfection VRS/MPVH dans 7% (8/111) des cas [49].

Une étude similaire basée sur la détection par RT-PCR des MPVH dans les prélèvements nasopharyngés de patients présentant des syndromes grippaux a été réalisée à Hong Kong en 2003 et a enregistré une prévalence de 52,1%(25/48cas). Parmi les 48 cas échantillonnés, 5 cas étaient infectés par le coronavirus et 6 cas de coinfection coronavirus/MPVH [54].

Une étude réalisée en Grèce de mai 2003 à mai 2004 et basée sur la recherche du VRS dans les prélèvements oropharyngés de 101 cas de syndromes grippaux chez des patients âgés de plus de 2 ans a enregistré une prévalence de 20,7%. Le VRS a été détecté pendant toute l'année mais la majorité des cas fut détectée en hiver (31%), et il y avait 3 cas de coinfection avec l' ADV [60].

De décembre 2003 à février 2005, une étude a été réalisée en Corée du sud basée sur des prélèvements nasopharyngés de 381 patients de moins de 15ans présentant des syndromes grippaux. L'analyse par RT-PCR a permis de détecter le VRS dans 33 ,8% (129/381) des cas ; il y avait 9 cas positifs pour virus para influenza, 9 cas d'influenza A, 2 cas d'influenza B, et 1 cas positif d'adénovirus. Le MPVH a été détecté par RT-PCR chez 28 patients (7,3%). Chez les 28 patients, les symptômes majeurs étaient : la toux (92,8%), la fièvre (60,2%), la rhinorrhée (39,2%), la dyspnée (17,8%), la diarrhée (7,2%), et les vomissements (7,2%), le wheezing(21,4%), les crépitants (25%) et les infiltrats pulmonaires radiologiques chez 10 (35,7%) patients[57].

En Allemagne, entre 2000-2010, le métapneumovirus humain(MPVH) a été détecté par RT-PCR chez 3% (138/4549) des patients présentant des syndromes grippaux ; et l'analyse des échantillons des enfants de moins de 4 ans hospitalisés pour syndromes grippaux quelque siècle auparavant a trouvé 11,9% de HMPV. Cette étude prouva en outre que le HMPV peut être responsable de syndromes grippaux à tout âge, mais les groupes les plus vulnérables sont les patients de moins de 4ans et les plus de 60ans.

Les symptômes majeurs que présentaient la plupart des patients sont: la fièvre, la toux, les frissons, et les autres signes classiques de broncho-pneumopathies .[24]

Une étude sur la recherche du virus para influenza (VPIH) en Amérique centrale et du Sud de 2006 à 2010 a été réalisée. Sur un total de 30 561 patients présentant des syndromes grippaux, on a trouvé une prévalence de 3,2% (991) dont le type VPIH-3 a lui seul occupait 40,7% (403) des cas positifs. La plupart des cas positifs étaient des hommes (53,7%) et les enfants de moins de 5ans (68,7%). Parmi ces patients, la sévérité des symptômes de certains a nécessité une hospitalisation (2007 cas). La prévalence du VPIH chez les hospitalisés était de 3,3% (66 cas). Les symptômes majeurs étaient la toux et les rhinorrhées.[61]

De mai 2008 à mars 2010 en Chine, fut réalisée une étude concernant les étiologies virales et le profil clinique des syndromes grippaux. Un total de 370 prélèvements nasopharyngés de patients âgés de 1 à 72 mois furent échantillonnés. Un pathogène viral fut détecté chez 350 (94,29%) patients parmi lesquels les virus les plus fréquemment détectés sont : entérovirus/rhinovirus (EV/RV) (54,05%) ; VRS (51,08%) ; bocavirus hmain (BoCA) (33,78%) ; parainfluenzavirus humain 3 (VPIH 3) (15,41%) ; et adenovirus (ADV) (12,97%). Le virus influenza A(H1N1)pdm09 était le plus fréquent des virus influenza mais fut détecté chez seulement 20 (5,41%) patients. Toutefois, le taux de détection du VRS et du MPVH était nettement plus élevée en zone rurale qu'en zone urbaine($P<0.05$).[62]

Une étude réalisée à Rome en 2009 et recherchant les causes virales des syndromes grippaux a montré que sur 103 prélèvements nasopharyngés, 24% (25) étaient positifs à l'influenza, 15% au rhinovirus et seulement 1 cas positif au VRS fut détecté. Les symptômes majeurs étaient : la fièvre, la toux, les maux de gorge [63].

En 2010 à Zhuhai en Chine, une analyse épidémiologique des causes virales des syndromes grippaux fut réalisée chez des patients externes. Sur 337272 patients reçus à l'hôpital en 2010, les cas de syndromes grippaux étaient 3747 soit 1,11%. Un échantillonnage de 24,66% (924/3747) fut fait. Dans cet échantillon, au moins un virus respiratoire a été détecté chez 441 (44,48%) patients et 42 (4,55%) étaient infectés par 2 virus. Chez les patients co-infectés par 2 virus, le VRS a été détecté dans 50% (21/42) des cas. Des différences significatives existaient dans la distribution par âge des virus

influenza B, des sous-types saisonniers influenza A(H3N2), et influenza A(H1N1)pdm09, le VRS, l'adénovirus (ADV). L'influence des caractéristiques saisonnières fut mise en évidence pour les souches A(H3N2) saisonnier du virus influenza A, le virus influenza B, le VRS et le MPVH. Ainsi, l'influence de la température sur l'incidence de la souche A(H3N2) saisonnier du virus influenza A, l'AVD, et le VRS a été évaluée; et l'impact de l'humidité relative de l'air a été déterminé sur le virus influenza B [64].

Au Sud de la Chine (à Guangzhou), de juillet 2009 à août 2010, l'analyse par RT-PCR des prélèvements nasopharyngés de patients présentant des syndromes grippaux a montré que sur les 4755 cas, 178 (3,7%) étaient positifs pour VPIH; 99 (2,1%) positifs pour VPIH -3; 58 (1,2%) pour VPIH -1; 19 (0,4%) pour VPIH -2 et 8 (0,2%) pour VPIH -4. Les enfants de moins de 5 ans occupaient les 88,9% (160/178) cas positifs au VPIH, mais aucun enfant de moins de 1 mois n'était positif au VPIH [53].

Dans d'autres régions de Chine (à Beijing), des études similaires ont été réalisées et ont mis en évidence 62 cas positifs au VPIH sur 443 syndromes grippaux dont 4 pour le VPIH -2 et 58 positifs pour le VPIH -3.[52]

Une étude sur les étiologies virales des syndromes grippaux fut réalisée en Inde de juin 2011 à mai 2012. Au Total sur 188 échantillons nasopharyngés collectés chez des patients âgés de 0-14ans, 45,7% étaient positifs aux virus respiratoires : 21,3% pour le VRS (fréquent surtout chez les patients de moins de 1 an); 8,5% pour le virus de la rougeole ; 7,4% pour l'influenza A ; 5,3% pour l'ADV ; 1,6% pour l'influenza B ; 1,1% pour le MPVH ; et 0,5% pour les Boca virus (HBoV). Les cas positifs atteignent leur pic surtout en décembre et janvier.[65]

En Afrique, la surveillance épidémiologique de la grippe et des syndromes grippaux a longtemps été embryonnaire. C'est le cas des pays comme le Burkina Faso contrairement à certains pays d'Afrique subsaharienne qui ont des données sur les syndromes grippaux.

Au Maroc ; la surveillance épidémiologique de la grippe a montré un total de 6465 cas de syndromes grippaux de 1996 à 2009, parmi lesquels 3102 cas étant collectés de 2007–2009. Parmi ces 3102 cas; 2249 (72%) étaient des IRA, et 853 (27%) étaient des IRAS. Pour les 3102 patients, 98 (3%) avaient une infection à Influenza confirmée au

laboratoire, dont 85 (87%) cas de IRA et 13 (13%) cas de IRAS. [12]. De juin 2009 à février 2010, le Maroc a obtenu 3937 cas de syndromes grippaux, parmi lesquels 1452 étaient positifs au virus influenza dont 1398 (96%) étaient A(H1N1)pdm09[13].

En Tunisie, une étude réalisée sur les étiologies virales des syndromes grippaux a prouvé que pendant la période post pandémique de 2010-2011, les virus influenza circulaient avec une prédominance de 70% pour A(H1N1) pdm09, et 22% pour l'influenza B. Les autres virus influenza étaient le A(H3N2) (5%) et les virus influenza A qui n'ont pas pu être sous typés (3%). Parmi les autres virus respiratoires, le VRS représentait à lui seul 45,29% .[14]

Une étude similaire réalisée à Antananarivo à Madagascar de juillet 2008 à juin 2009 a trouvé des virus respiratoires dans 75,1%(235/313) des cas. Parmi les cas positifs, on avait 27,3% pour l'influenza A ; 24,8% pour le rhinovirus ; 21,2% pour le VRS ; 6,1% pour l'ADV ; 6,1% pour le Coronavirus ; 3,9% pour l'Influenza B ; 2,9% pour le VPIH 3 ; et 2,3% pour le VPIH 1.Cette étude prouva en outre que les enfants de moins de 5 ans étaient les plus touchés tant sur le plan symptomatique que virologique.

Les symptômes les plus fréquents étaient la fièvre, la toux et les maux de gorge.[66]

Au Kenya , une recherche du VRS par RT-PCR dans les prélèvements oropharyngés et nasopharyngés chez des cas de syndromes grippaux entre mars 2007 et février 2011 a trouvé une prévalence de 12,5% chez les enfants et adultes en zone rurale et 11,7% en zone urbaine.[25]

La surveillance sentinelle des syndromes grippaux en recherchant par RT-PCR l'influenza et les autres virus respiratoires dans les prélèvements nasopharyngés établie en Côte d'Ivoire de 2003-2010 a trouvé : 5074 cas de syndromes grippaux dont 969 (19%) cas positif au virus influenza. Le type A(H1N1) saisonnier prédominait lors des 5 premières années et le type A(H3N2) lors des 3 autres. Le virus Influenza B Co circulait avec l'influenza A durant chaque année de 2004 à 2010. Parmi 470 prélèvements de syndromes grippaux chez les enfants de moins de 5 ans pour rechercher les autres virus respiratoires, il y avait 401/470 (85%) cas positifs à des virus respiratoires : 113/470 soit 24% au VRS (Virus respiratoire syncytial), 85/470 soit 18% au rhinovirus, 77/470 soit 16% à l'influenza, 75/470 soit 16% au virus

parainfluenza. Cette étude prouva donc la circulation de l'influenza et des autres virus respiratoires responsables de syndromes grippaux en côte d'Ivoire.[15]

Au Cameroun, de janvier à Décembre 2009, une étude sur les étiologies virales des syndromes grippaux fut réalisée dans 14 sites sentinelles de surveillance par Richard *et al.*. Au total 561 patients furent enrôlés par prélèvement oro et/ou nasopharyngé. Au moins 1 virus respiratoire fut détecté chez 365 patients sur les 561 cas de syndromes grippaux échantillonnés (65,1%). Le virus influenza était le plus détecté (28,2%) ; ensuite venait le rhinovirus (17,8%); le virus para influenza (VPIH1-4) (7,5%); l'entérovirus (5,9%); le virus respiratoire syncytial(VRS à 5,7%); Le coronavirus (HCoV) (5,3%); et le métapneumovirus humain(MPVH à 5,0%).

La répartition en fonction du sexe n'a pas trouvé de différence significative entre les 2 sexes. Il y avait 281 Hommes (50,1%); 273 femmes (48,7%), et 7 (1,2%) cas de cas non spécifié pour cause d'oubli.

L'âge des patients était compris entre 1,2 mois et 75 ans ; avec une médiane de 6 ans. Les patients de moins de 5 ans occupaient 44,6% de la population d'étude. La répartition en fonction de l'âge a trouvé une différence statistiquement significative entre les sujets de moins de 5 ans et ceux qui en ont plus pour le VRS ($p<0,001$) ; les VPIH ($p<0,001$). Le VRS, les VPIH étaient plus fréquent chez les moins de 5 ans. Par contre cela était le contraire pour l'influenza ($p<0,001$).

Les symptômes chez les patients étaient : fièvre (100%) ; toux (91,1%) ; maux de gorge (31,7%) ; les vomissements (14,8%) ; la diarrhée (9,3%).

La saisonnalité des virus influenza, le VRS et le MPVH a été mise en évidence. Les autres virus ont été détectés pendant toute l'année. Le VRS était plus détecté d'octobre à décembre avec son pic en octobre. Le MPVH était plus détecté entre juin et juillet. Les VPIH étaient plus détectés après novembre [75] .

La surveillance sentinelle de l'influenza chez les cas de syndromes grippaux établie dans plusieurs localités a montré une prévalence de 29% pour le Cameroun[16] ; 7,7% pour le Nigeria[17] ; 10% pour le Kenya[18].

Des résultats presque similaires ont été trouvés dans de nombreux pays de l'Afrique subsaharienne, c'est le cas au Togo[19], en Ethiopie[20] ; Madagascar[21], en Sierra Léone[22] en République démocratique du Congo[23] et présentés à la dernière

conférence du réseau africain de surveillance de la grippe de février 2012, à Nairobi , au Kenya. Si quelques données sur l'influenza et les autres virus respiratoires sont disponibles dans les pays suscités, cela n'est pas le cas dans de nombreux autres pays de la sous région dont le Burkina Faso. C'est n'est qu'en 2009, qu'un Centre National de Référence pour la Grippe(CNRG) a été créé au Burkina Faso par le Ministère de la Santé (Arrêté ministériel n° 2009- 100/MS/CAB du 18 mai 2009) qui a mis en route une surveillance sentinelle de la grippe à partir de 2010.

Les résultats préliminaires de la première année de cette surveillance ont montré une prévalence de 6,8% des virus influenza [26]. Cependant, cette étude n'avait pas explorer les autres étiologies virales des syndromes grippaux tels que les autres virus respiratoires responsables. Notre étude est une première au Burkina Faso à investiguer les virus respiratoires, autres que l'influenza, chez les cas de syndromes grippaux.

III. QUESTION DE RECHERCHE

III. QUESTION DE RECHERCHE

III.1. QUESTION DE RECHERCHE

Quelles sont les virus respiratoires, autres que l'influenza, circulant chez les cas de syndromes grippaux au Burkina Faso?

III.2. BUT DE L'ETUDE

Contribuer à déterminer les étiologies virales des syndromes grippaux, autres que l'influenza dans les sites de surveillance au Burkina Faso.

IV. OBJECTIFS

IV. OBJECTIFS

IV.1. OBJECTIF GENERAL

Investiguer les virus respiratoires autres que l'influenza dans les sites de surveillance sentinelle des syndromes grippaux au Burkina Faso 2010 - 2013.

IV.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Déetecter les autres virus respiratoires chez cas de syndromes grippaux dont le résultat du prélèvement est revenu négatif au virus influenza.
- Déterminer les proportions de chaque autre virus respiratoire détecté.
- Déterminer l'influence des facteurs climatiques (température, pluviométrie, humidité relative, la pression atmosphérique et vitesse du vent) sur la circulation des autres virus respiratoires détectés.

V. MATERIEL ET METHODES

V. MATERIEL ET METHODES

V.1. CADRE ET CHAMP DE L'ETUDE

Notre étude a été réalisée au sein des structures suivantes :

-Les sites sentinelles de surveillance de la grippe de Bobo-Dioulasso et de Ouagadougou.

-Le Centre National de Référence pour la Grippe (CNRG) abrité par la direction régionale de l’Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS/DRO), Bobo-Dioulasso.

- L’Institut d’immunologie du Luxembourg.

- L’unité navale de recherche médicale des USA ou encore « U.S. Naval Medical Research Unit No.3 » (NAMRU-3) au Caire, Egypte.

- La direction régionale de la météorologie de Bobo-Dioulasso.

Tous les sites ont été échantillonnés de façon raisonnée selon plusieurs critères et conformément aux recommandations du protocole national de surveillance de la grippe : proximité, fréquentation, accessibilité et disponibilité des agents.

V.1.1. Les sites de surveillance de la grippe

Les sites de surveillance sentinelle de la grippe sont localisés à Bobo-Dioulasso et à Ouagadougou (Figure 3).

➤ A BOBO-DIOULASSO :

- L’Hôpital de District de Dô qui est un centre médical avec antenne chirurgicale située au secteur 22 de la ville. Il couvre une population totale de près de 490 000 habitants et est le premier centre de référence pour 24 Centres de Santé et de Promotion Sociale (CSPS) et 89 formations sanitaires privées. Un médecin spécialiste, 5 médecins généralistes, 2 pharmaciens, 7 techniciens de laboratoire, 39 attachés de santé, 42 infirmiers, 15 sages-femmes et 8 accoucheuses y assurent les prestations médicales, paramédicales et chirurgicales courantes au profit des populations.

- Le CSPS de Colsama : situé au secteur 21 de Bobo-Dioulasso, c'est une formation sanitaire urbaine mise en service en 2000 couvrant une population totale estimée à plus de 36 000 habitants en 2012. Elle comprend un dispensaire et une maternité. Un personnel de Vingt et un agents (21) de santé composé d’infirmiers, d’agents itinérants

de santé (AIS), d'accoucheuses auxiliaires (AA) y assurent les activités quotidiennes. Les principales activités sanitaires qui y sont menées sont les consultations curatives, prénatales, les consultations de planning familiale et d'autres activités de préventions telles la prévention par la vaccination et l'information-éducation-communication(IEC).

- Le Centre de Santé et de Promotion Sociale (CSPS) de Bolomakoté créé depuis 1958 a en sa charge une population de plus de 19 800 habitants en 2012. Vingt-six agents de santé assurent les activités courantes de consultations curatives et de prévention dévolues aux CSPS.

-L'Infirmerie de Garnison de Bobo Dioulasso localisée à l'intérieur du Camp militaire Ouézzin Coulibaly de Bobo-Dioulasso.

➤ A OUAGADOUGOU :

- L'Infirmerie de Garnison de Ouagadougou sise au Camp militaire Guillaume Ouédraogo,

- L'Infirmerie du Camp militaire Général Aboubacar Sangoulé Lamizana.

Les infirmeries de garnison assurent la prise en charge sanitaire des militaires, de leurs familles et de la population générale.

V.1.2. Le Centre National De Référence Pour La Grippe (CNRG)

Les analyses ont été réalisées au laboratoire de virologie du Centre National de Référence pour la Grippe (CNRG) situé au sein de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé (IRSS) à Bobo-Dioulasso (Arrêté N°2009/100/MS/CAB portant désignation du Centre

National de Référence pour la Grippe). Le centre a débuté la surveillance sentinelle des syndromes grippaux en juin 2010. Ce centre abrite le laboratoire national de référence (LNR) pour la grippe où sont réalisées les analyses. Le LNR comprend :

- Une salle d'extraction des acides nucléiques (ARN, ADN) quasi hermétiquement fermée répondant aux normes de confinement recommandées. L'existence d'un système de sas pour le port d'une tenue vestimentaire spécifique et appropriée assure une sécurité de niveau P2 plus.

- Une salle de préparation du master mix: dans cette salle sont conservés les réactifs nécessaires à la préparation du mix. Aucune autre manipulation n'est autorisée. De même aucun produit pathologique ne doit être introduit dans cette salle.

-Une salle d'amplification : Elle abrite deux appareils PCR à temps réel qui servent à l'amplification des acides nucléiques.

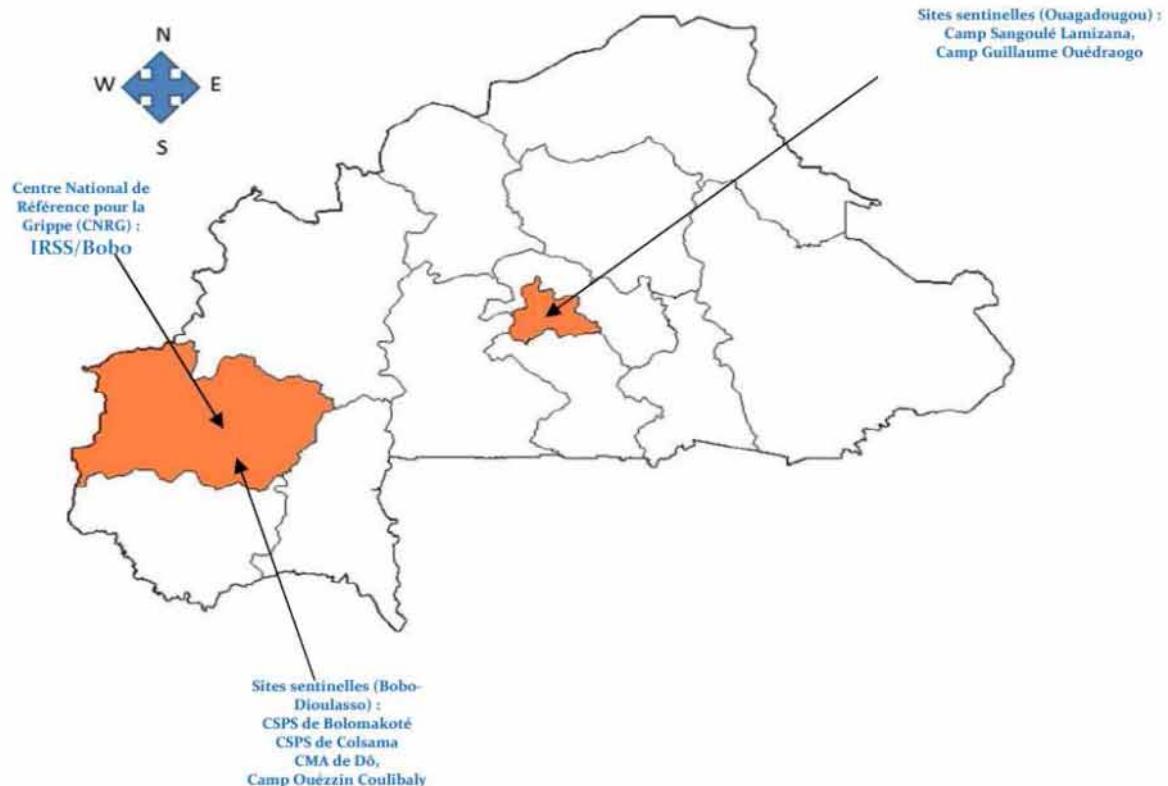


Figure 3: Carte du Burkina Faso représentant les sites de l'étude.

IV.1.3. L’Institut d’Immunologie du Luxembourg

L’institut d’immunologie du Luxembourg est un département du Centre de Recherche Public-Santé (CRP-Santé) et du laboratoire national de santé (LNS). Depuis 2002 l’institut d’immunologie du Luxembourg a signé une convention avec l’IRSS-DRO pour une collaboration scientifique.

V.1.4. L’Unité Navale De Recherche Médicale Des USA «U.S. Naval Medical Research Unit N°3 » (NAMRU-3) au Caire, Egypte

Le NAMRU-3 est une institution partenaire aux laboratoires nationaux de référence de la grippe de la région OMS Afro et est chargée d’assister matériellement et financièrement les laboratoires de surveillance de la grippe.

V.1.5. La Direction Régionale de la Météorologie de Bobo-Dioulasso

La direction régionale de la météorologie de Bobo-Dioulasso sise au sein de l'aéroport de Bobo-Dioulasso est chargée de la surveillance météorologique dans la ville à travers les relevés quotidiens des différents paramètres. Ces missions sont la collecte, la concentration, le traitement, l'analyse et archivage des données météorologiques et climatologiques. (*Iconographie 1*).

V.2. TYPE ET PERIODE D'ETUDE

Il s'est agi d'une étude descriptive de type transversale portant sur les patients reçus en consultation externe pour « syndrome grippal » (SG) selon la définition du protocole national de surveillance de la grippe : « **une fièvre ≥ à 38 C, et une toux et/ou un mal de gorge en l'absence d'autre diagnostic** ». Cette étude s'est étendue sur trois années de surveillance de la grippe de juin 2010 à mai 2013.

V.3. POPULATION D'ETUDE

La participation à cette surveillance a concerné les patients externes présentant un syndrome grippal selon la définition du protocole national de surveillance de la grippe.

-Critères d'inclusion

Les patients qui correspondaient à la définition de Syndromes Grippaux (Fièvre : température $\geq 38^{\circ}\text{C}$ et Toux ou Maux de gorge en l'absence d'autre diagnostic) et dont les symptômes sont apparus dans les 3 jours précédent la consultation (pouvant aller jusqu'à 7 jours) et ayant donné un consentement oral éclairé de participation à la présente surveillance.

-Critères de non-inclusion

Les patients qui ne correspondaient pas à la définition des cas de SG, ou les patients qui ont refusé le prélèvement oro-pharyngé, ou encore quand un autre diagnostic était évident.

V.4. ECHANTILLONNAGE

Notre étude a concerné les patients externes reçus en consultation entre juin 2010 et mai 2013 pour «Syndrome Grippal» selon la définition de cas du protocole national de surveillance de la grippe élaboré en 2009 en collaboration avec la Direction de la Lutte contre la Maladie (DLM) du Ministère de la Santé (MS). Les agents de santé des sites sentinelles désignés (infirmiers, sages-femmes, techniciens de laboratoire) ont été formés à la reconnaissance des cas suspects de SG, et aussi à la technique de prélèvement par écouvillonnage. Dans le protocole, il est mentionné que les trois premiers patients reçus par site les jours ouvrables sauf le vendredi (jour réservé à la manipulation au laboratoire) doivent être enrôlés dans la surveillance. Si le premier jour il n'y a pas eu de cas, le second jour, on était autorisé à enrôler jusqu'à six patients, ce qui a permis d'avoir une moyenne de douze (12) prélèvements par semaine (au début de la surveillance, un seul site était concerné). En respectant tous les critères d'inclusion et de non inclusion, au bout d'une année de surveillance, un nombre annuel de 12 spécimens X 52 semaines = 624 spécimens étaient attendus soit un total de 624 spécimens X 3 ans = 1872 spécimens pour les trois années. Mais compte tenu des prélèvements inadéquats qui pouvaient se glisser dans l'échantillon, le protocole a considéré qu'un nombre de spécimens compris entre la moitié et le total des prélèvements attendu était largement suffisant et représentatif pour cette surveillance sentinelle. Soit une taille d'échantillons comprise entre 936 et 1872. Pendant les trois années de surveillance, un total de 1036 spécimens cliniques a effectivement été collecté.

V.5. DESCRIPTION DES VARIABLES ETUDIEES

- Variables épidémiologiques : Age, sexe
- Variables cliniques : fièvre, toux, mal de gorge, diarrhée, vomissement.

- Variables biologiques : Influenza ; VRS ; MPVH ; VPIH1 ; VPIH2 ; VPIH3
- Variables météorologiques : Température, vitesse du vent, humidité relative, pluviométrie et pression atmosphérique.

V.6. DEFINITIONS OPERATIONNELLES

- **Cas suspect de grippe** : c'est tout patient correspondant à la définition de cas de SG ou d'IRAS et enregistrés comme tel au niveau du site sentinelle.
- **Cas prélevé** : correspond à tout cas suspect qui a été effectivement prélevé sur le site
- **Cas confirmé ou cas positif** : c'est tout cas suspect prélevé s'étant avéré positif après les analyses de laboratoire
- **La température** mesure la quantité de chaleur de l'air ambiant. Elle est exprimée le plus souvent en degrés Celsius (*Iconographie 2*).
- **L'humidité relative** : encore appelée état hygrométrique est le rapport entre la quantité de vapeur d'eau contenue dans un volume d'air donné à une température donnée et la quantité de vapeur d'eau contenue par ce même volume d'air à saturation. Elle se mesure à l'aide d'un hygromètre et exprimée en pourcentage (*Iconographie 2*).
- La **pluviométrie** : c'est la mesure quantitative de la pluie. L'outil utilisé pour la mesurer est le pluviomètre (pluviographe). La mesure utilisée est généralement le millimètre (*Iconographie 3*).
- **La vitesse du vent** est la composante horizontale du déplacement de l'air en un point donné et à un instant donné que l'on mesure généralement en mètres par seconde.
- **La pression atmosphérique** : elle correspond au poids de la colonne d'air située au-dessus d'un niveau donné. Elle se mesure à l'aide d'un baromètre et s'exprime en millibars (*Iconographie 4*).

V.7. COLLECTE DES DONNEES

Nous avons utilisé comme outils de collecte les fiches de notification des cas suspect de SG utilisées pour l'enregistrement des syndromes grippaux. Cette fiche comprend trois parties : une première partie concernant l'identification du patient (nom, prénom(s), âge et sexe), une seconde aux aspects cliniques (fièvre, toux, maux de gorge, vomissement, ...) et une dernière relative aux résultats d'analyse de laboratoire

(Annexe 1). Les patients répondant à la définition de cas de syndromes grippaux étaient enregistrés au niveau des différents sites sentinelles. Des agents de santé exerçant au niveau des sites sentinelles ont été préalablement formés à la surveillance de la grippe par le CNRG en collaboration avec les partenaires du CDC/NAMRU-3 et la Direction de lutte contre la Maladie (DLM).

Les données météorologiques ont été également recueillies sur des fiches de collecte établies à cet effet (Annexe 2). Les moyennes des relevés météorologiques par semaine ont été fournies par la direction régionale de la météorologie de Bobo-Dioulasso.

Quand un patient présentait un syndrome grippal en consultation externe au niveau des sites sentinelles, après considération des critères d'inclusion, et de non inclusion, on effectuait un prélèvement oro-pharyngé à l'aide d'écouillon stérile qui était ensuite placé dans un milieu de transport viral (MTV) qui a servi d'abord au transport du virus jusqu'au laboratoire et ensuite à la conservation du virus en attendant les analyses de laboratoire. La technique de prélèvement est représentée par la figure 5. Le transport des échantillons des sites sentinelles au CNRG a lieu tous les jours ouvrables. Les prélèvements sont mis dans des glacières contenant des ice-boxes et acheminés au laboratoire du CNRG à bord d'une motocyclette (*Iconographie 5*).

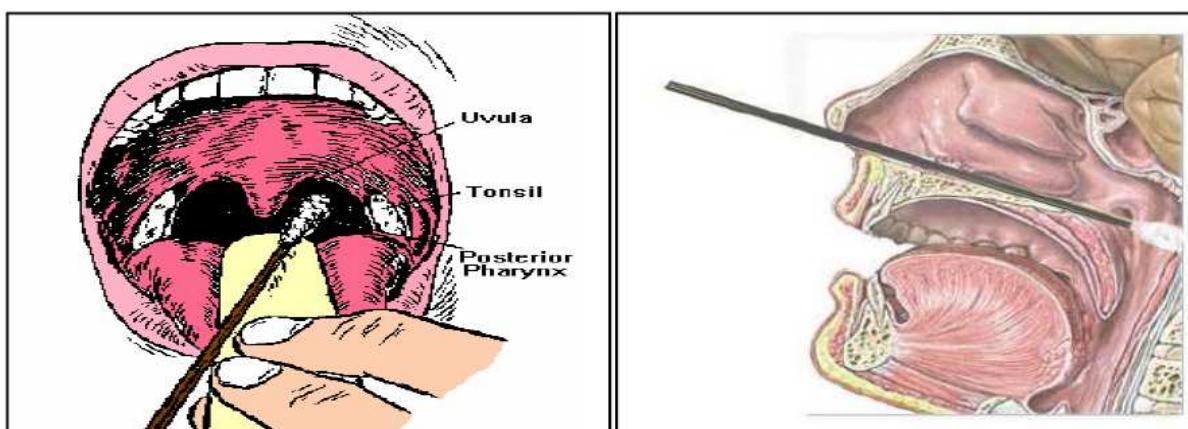


Figure 4 : Méthode de prélèvement oropharyngé (à gauche) et nasopharyngé (à droite).

V.8. ANALYSE DES ECHANTILLONS AU LABORATOIRE

Les analyses ont été effectuées au sein du laboratoire de virologie du CNRG. La mise en évidence des virus influenza a été faite par la technique RT-PCR en temps réel selon l'algorithme de détection des virus influenza du centre de référence.

A la réception au laboratoire, chaque échantillon est traité et subdivisé en trois aliquotes différents dans trois cryotubes de 1,5 mL Chacun (*iconographie 6*). Deux aliquotes sont systématiquement conservés au congélateur à - 80°C et le troisième aliquote est utilisé pour l'extraction de l'ARN viral.

La RT-PCR en temps réel est réalisé dans trois salles séparées obligatoires que sont :

- La salle d'extraction : c'est une salle sécurisée et équipée pour la réalisation de l'extraction de l'ARN viral.
- La salle de préparation des mix elle est séparée de la salle d'extraction afin d'éviter toute contamination. L'accès à cette salle est strictement réglementé (port de blouse spéciale, nombre de personnes limité ...).
- La salle d'amplification ou salle PCR proprement dite. Elle est équipée de deux machines de RT-PCR en temps réel pour l'étape finale d'amplification.

V.8.1. Extraction de l'ARN viral

Elle s'est effectuée au niveau de la salle d'extraction. Elle s'est faite de façon manuelle sous une hotte à flux laminaire de sécurité biologique niveau 2 (*Iconographie 7*) ; ou à l'aide d'une machine d'extraction automatique QIAcube® (*Iconographie 8*) avec le kit « QIAamp® viral RNA mini » conformément au protocole du fournisseur (QIAGen, Germany). L'extraction automatique permet en plus d'un gain de temps d'éviter les erreurs humaines et minimiser les contaminations. L'extraction se fait en quatre étapes : (voir protocole d'extraction manuelle et automatique en *annexe 3 et iconographie 9*).

- la lyse : elle permet grâce à une solution de lyse préalablement préparée à cet effet (Buffer AVL+carrier RNA) de provoquer une lyse des cellules et une dénaturation des RNases en vue de libérer de l'ARN viral intact.
- La fixation : elle permet de fixer l'ARN préalablement libéré sur une membrane grâce à une solution d'éthanol à 96°.

- L'étape de lavage : à l'aide deux solutions tampons (AW1 et AW2) pour obtenir un ARN purifié exempt de toute contamination.
- Enfin, l'étape d'élution utilise une solution (tampon AVE) pour drainer l'ARN retenu que l'on conserve à -20°C.

V.8.2. Préparation du MIX

Elle a pour but de préparer les différents réactifs avec lesquels les échantillons seront testés (un couple primer/sonde de l'influenza A, l'influenza B et la ribonucléase P). La solution de master mix était préparée dans la salle de préparation des mix ; les volumes des différents réactifs à prélever (Eau pure, 2xmix, Primer F, Primer P, Sonde, Enzyme) ont été calculés selon qu'on utilise le kit « Invitrogen » ou le kit « Ambion ». les volumes étaient aussi fonction du nombre d'échantillons que l'on doit tester (voir protocole de préparation du master mix en (*annexe 4*)). Ensuite 20 µL du mix sont distribués dans chaque puits et 5 µL de contrôle négatif sont ajoutés dans les puits réservés à cet effet selon le schéma de plaque. La plaque est transférée dans la salle d'extraction où 5 µL de l'ARN (Template) de chaque spécimen à analyser et 5 µL des différents contrôles positifs sont ajoutés dans les cupules toujours selon le schéma de plaque. La plaque était ensuite amenée au niveau de la salle d'amplification.

V.8.3. L'amplification et la détection

L'amplification et la détection des virus ont été réalisées à l'aide de l'une des deux machines PCR en temps réel : **Applied Biosystems 7300 ®** et **Applied Biosystems 7500 fast®** (*iconographie 10 et 11*), chacune couplées à un microordinateur chacune. Les résultats obtenus ont été interprétés selon un protocole d'analyse et d'interprétation des résultats (*annexe 5*). En effet, pour un échantillon qui était positif au virus influenza A, un sous typage a été effectué pour déterminer s'il s'agissait du sous type A(H3N2) saisonnier, du sous type H1N1 saisonnier ou alors du sous type A(H1N1)pdm09. Pour les échantillons qui étaient positifs au virus influenza B, la réaction s'arrêtait à ce niveau.

Les figures 5 et 6 montrent l'allure des courbes représentant respectivement un résultat positif et un résultat négatif de PCR à temps réel.



Figure 5 : Courbe représentant un résultat positif de RT-PCR à temps réel pour la détection des virus influenza.



Figure 6: Courbe représentant un résultat négatif de RT-PCR à temps réel pour la détection des virus influenza

Les iconographies 10 et 11 représentent les appareils de PCR à temps réels qui ont été utilisés au laboratoire de virologie du centre de référence pour l'amplification de l'ARN viral.

Pour la réalisation de ces analyses, les bonnes pratiques de laboratoire ont été respectées et nos résultats sont soumis à un contrôle de qualité externe de l'OMS.

Au titre des résultats obtenus dans notre surveillance, 56 souches du virus influenza dont 8 en 2012 et 48 en 2013 ont été envoyées au CDC Atlanta pour approfondir les analyses de laboratoire par l'isolement du virus sur cultures cellulaires. Quelques une de nos souches ont été retenues pour participer à la mise au point des vaccins contre la grippe pour les années 2012 et 2013 dans les hémisphères nord et sud (**certificats en Annexes 6**).

Après la détection des virus influenza par RT-PCR en temps réel au laboratoire du CNRG à Bobo-Dioulasso, selon la disponibilité des réactifs (le coût des réactifs de la RT-PCR en temps réel sont onéreux) 796 échantillons négatifs au virus Influenza ont été analysés à la recherche de cinq autres virus respiratoires qui sont : le Virus Respiratoire Syncytial (VRS) ; le Métapneumovirus Humain (MPVH) ; les Virus Para influenza Humains (VPIH) de type 1, 2 et 3. Pour ce faire une PCR nichée a été pratiquée avec l'aide le laboratoire de l'Institut d'immunologie du Luxembourg en utilisant des amorces appropriées.

Dans le cadre du contrôle de qualité externe, une supervision annuelle est effectuée dans le laboratoire national de référence de la grippe du Burkina Faso au mois d'avril. Pour l'année 2013, un choix raisonné de 50 échantillons (28 de nos échantillons positifs à l'influenza, 18 échantillons négatifs à l'influenza, et 4 échantillons pris aléatoirement) ont été testés par le laboratoire collaborateur du NAMRU-3 à la recherche des virus influenza et des autres virus respiratoires.

V.9. ANALYSES DES DONNEES

Nous avons procédé à une double saisie des données obtenues à partir des fiches de collecte sur un logiciel Microsoft Excel Office 2010. Les données saisies ont par la suite été compilées, analysées et interpréter à l'aide du logiciel STATA 12.1 avec un

intervalle de confiance à 95% (IC95%). Une relation entre deux variables n'était statistiquement significative que pour une valeur de $p<0,05$.

Le plan d'analyse a été le suivant :

➤ Caractéristiques de la population d'étude :

-Répartition par site : description de la répartition de la Population d'étude en fonction de chaque site.

-Répartition par âge :

*Age moyen de la population d'étude,

*Ages extrêmes de la population d'étude,

*La médiane d'âge de la population d'étude.

-Répartition par Sexe : Répartir la population d'étude en fonction des 2 sexes (masculin ou féminin) et calculer le sexe ratio pour déterminer le sexe prédominant.

➤ Caractéristiques cliniques :

Déterminer les proportions de chaque signe clinique majeur dans la population d'étude (fièvre, toux, mal de gorge, diarrhée, vomissement).

➤ Aspects virologiques

-Proportion de chaque type et sous type de virus.

-Distribution de chaque type et sous type de virus en fonction

*du sexe (M, F)

*de l'âge (les tranches d'âges) :<1an ; 1-4ans ; 5-14ans ; 15-49ans ; 50-64ans ;

>64ans.

*des périodes de l'année (Par mois)

- Analyser l'impact des facteurs climatiques (la pluviométrie, le taux d'humidité de l'air ambiant, la vitesse du vent et la température, la pression atmosphérique) sur la circulation des différents virus (VRS ; MPVH ; VPIH 1 ; VPIH 2 ; VPIH 3)

VI. CONSIDERATIONS ETHIQUES

VI. CONSIDERATIONS ETHIQUES

Le Centre National de Référence pour la Grippe(CNRG) a été créé par l'arrêté ministériel n° 2009- 100/MS/CAB du 18 mai 2009 autorisant ainsi une surveillance sentinelle de la grippe au niveau national.

Un protocole national de surveillance de la grippe a été élaboré et validé par la DLM.

Le consentement oral éclairé de tous les patients est obtenu avant leur inclusion.

Cette étude a été faite dans le cadre courant des soins et les patients ne courraient aucun danger.

Les résultats des prélèvements étaient ensuite acheminés au niveau des différents sites sentinelles de surveillance. Ils étaient communiqués aux patients lors des consultations de contrôle et le traitement était ensuite réajusté si nécessaire.

VII. RESULTATS

VII. RESULTATS

VII.1. CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION D'ETUDE

Au total 1036 cas cliniques (cas suspects) de syndromes grippaux ont été prélevés au niveau des différents sites sentinelles pendant ces trois années de surveillance.

En fonction de la disponibilité des réactifs, 796 spécimens négatifs aux virus influenza ont servi à la recherche des virus respiratoires autres que l'influenza ; ce qui constitue notre population d'étude.

➤ Répartition par site de la population d'étude

La majorité des patients dont les spécimens étaient négatifs aux virus influenza ont été inclus au CSPS de Colsama (567 cas). La répartition des prélèvements avérés négatifs pour les virus influenza est présentée dans le tableau II.

Tableau II : Répartition par site de la population d'étude

Site Sentinel	Effectif	Pourcentage
Camp Guillaume	15	1,88
Camp Ouezzin	8	1,01
Camp Sangoulé Lamizana	21	2,64
CMA/Do	70	8,9
CSPS de Bolomakoté	115	14,45
CSPS de Colsama	567	71,23
Total	796	100,00

➤ **Répartition par âge de la population d'étude**

L'âge moyen de la population d'étude était de 12,55 ans avec des âges extrêmes de 1 mois et 83 ans. La médiane était de 5ans.

➤ **Répartition par sexe de la population d'étude**

Parmi les 796 patients, il y'avait presque autant d'hommes que de femmes avec un sex ratio (F/H) était de 1,06218 (410/386).

VII.2. CARACTERISTIQUES CLINIQUES DE LA POPULATION D'ÉTUDE

A l'inclusion, cinq symptômes ont été recherchés chez les patients. Ce sont : la fièvre, la toux, le mal de gorge, la diarrhée et les vomissements. La toux et la fièvre étaient au-devant du tableau clinique respectivement chez 97,48 % et 93,08 % des patients. Le mal de gorge était moins fréquent (49,06 %), ainsi que les vomissements (22,01 %) et la diarrhée (6,79 %) chez les patients (Figure 7).

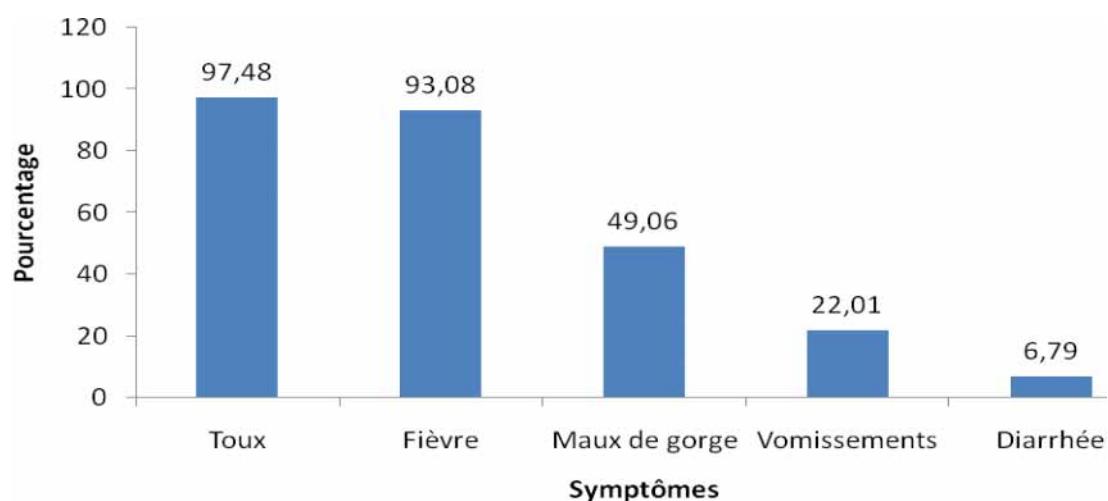


Figure 7 : Fréquence des signes cliniques de la population d'étude

VII.3. LES VIRUS DETECTES DANS LA POPULATION D'ÉTUDE

VII.3.1. Proportion de chaque type et sous type de virus

Sur les 796 spécimens analysés, les autres virus respiratoires ont été détectés chez 109 patients (13,7%). Les virus respiratoires détectés sont au nombre de cinq (Figure 8).

Ce sont :

- Virus respiratoire syncytial (VRS) : 5,78% ; IC_{95%}= [4,14%-7,42%]
- Métapneumovirus humain (MPVH): 3,27% ; IC_{95%}= [2,03%-4,5%]
- Virus Parainfluenza 3(VPIH3): 2,64% ; IC_{95%}= [2,61%-2,67%]
- Virus Parainfluenza 2 (VPIH2): 1,13% ; IC_{95%}= [0,5%-1,75%]
- Virus Parainfluenza 1(VPIH1): 0,88% ; IC_{95%}= [0,26%-1,5%]
- Aucune co-infection n'a été détectée.

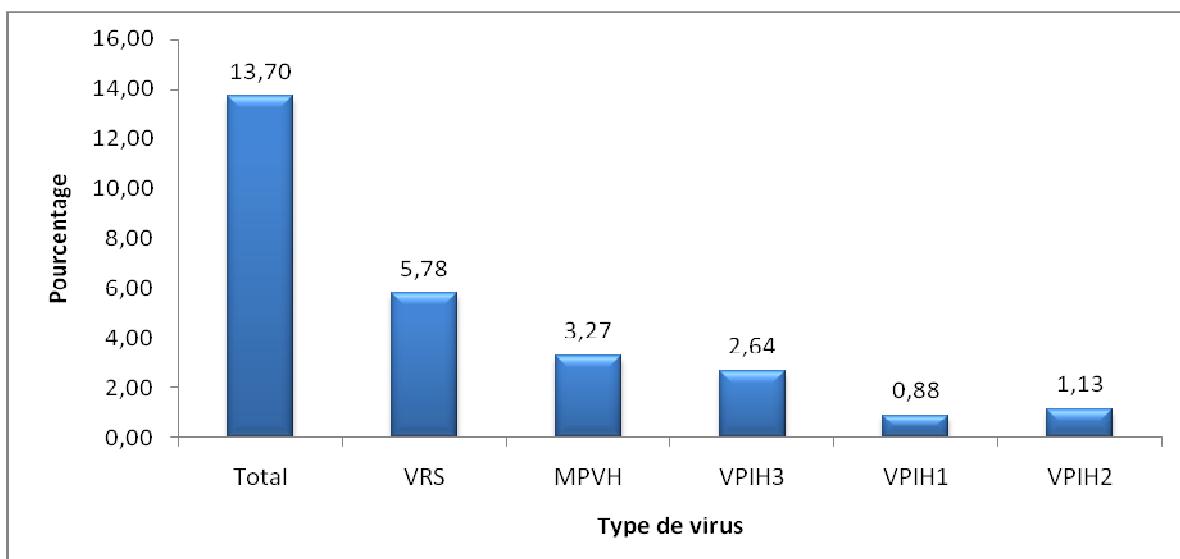


Figure 8 : Proportions de chaque type et sous types de virus respiratoires

VII.3.2. Distribution de chaque type de virus respiratoires en fonction du sexe

Les 5 types de virus respiratoires ont été repartis en fonction du sexe. Mais, nous n'avons pas trouvé de relation statistiquement significative entre la répartition de chacun des virus en fonction du sexe. La valeur de p est toujours supérieur 5% dans tous les 5 cas (Tableau III).

Tableau III : Distribution de chaque type et sous type de virus en fonction du sexe

		SEXÉ			TEST STATISTIQUE		
		M	F	Total	Pearson	Fisher's	
					chi2	exact	valeur de p
VRS	Négatif	361	389	750			
	Positif	27	19	46		0,443	0,378
	Total	388	408	796			
MPVH	Négatif	379	391	770			
	Positif	14	12	26		0,543	0,451
	Total	393	403	796			
VPIH1	Négatif	391	398	789			
	Positif	3	4	7	0,0930		0,760
	Total	394	402	796			
VPIH2	Négatif	389	398	787			
	Positif	5	4	9	0,1767		0,674
	Total	394	402	796			
VPIH3	Négatif	383	392	775			
	Positif	10	11	21		1,000	0,899
	Total	393	403	796			

VII.3.3. Distribution de chaque type de virus en fonction des tranches d'âge

➤ Pour le VRS

Le virus respiratoire syncytial est présent au niveau de toutes les classes d'âge sauf après 64 ans. Sa fréquence est élevée surtout chez les patients jeunes (moins de 5 ans) et la classe modale est celle de 1 à 4 ans. Cependant, il n'y a pas de relation statistiquement significative entre la distribution du VRS et les tranches d'âge ($p=0,119$). (Figure 9)

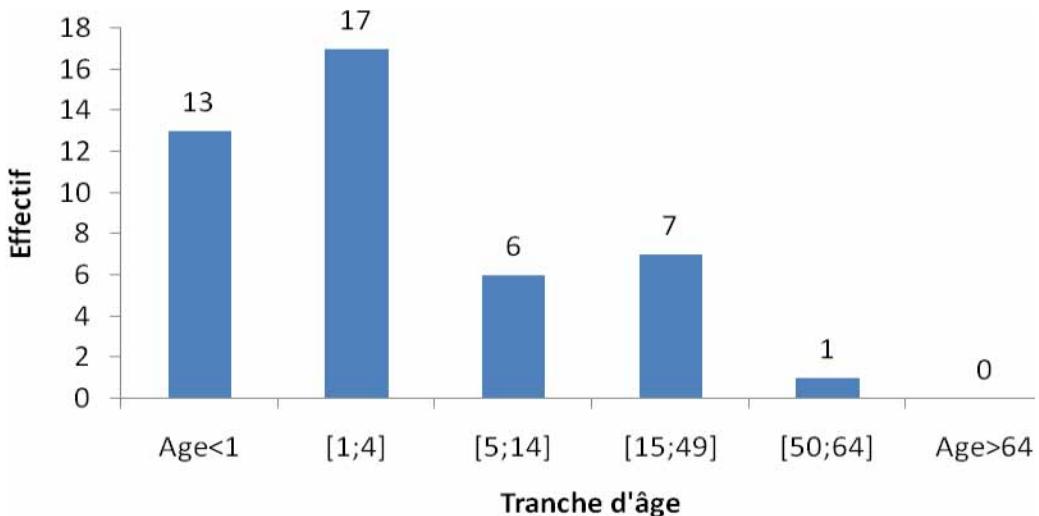


Figure 9 : Distribution du VRS en fonction des tranches d'âge

➤ Pour le MPVH

Le MPVH est présent chez presque toutes les classes d'âge. Cependant, il est plus fréquent avant l'âge de 5 ans et la classe modale est celle de 1 à 4 ans. La répartition du MPVH est fonction de l'âge. Ceci a été prouvé par les tests statistiques ($p= 0,003$). La circulation du MPVH semble donc dépendre de l'âge (fréquence chez les sujets jeunes), (Figure 10).

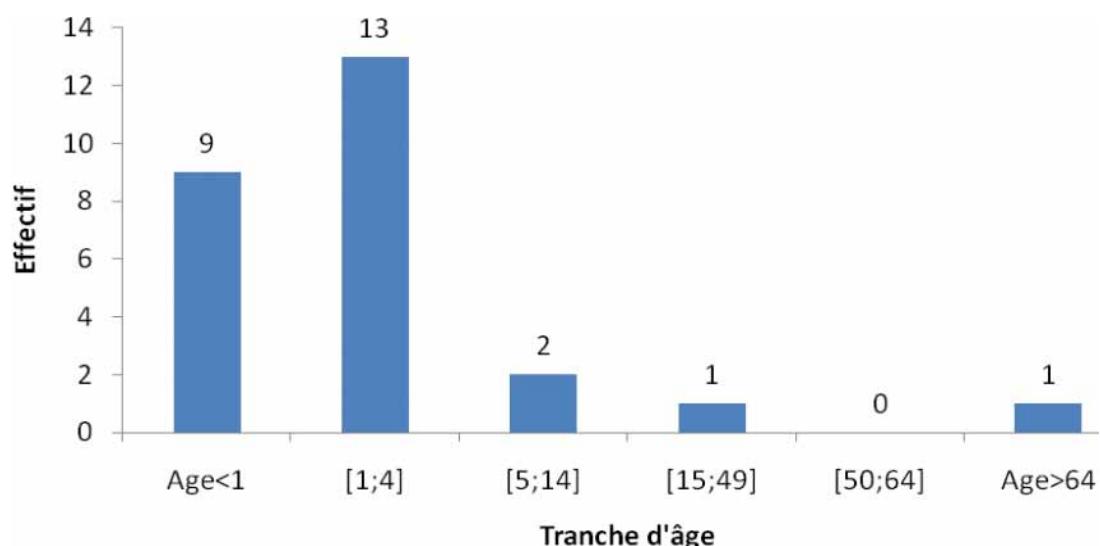


Figure 10 : Distribution du HMPV en fonction des tranches d'âge

➤ POUR LE VPIH1

Le VPIH1 a été détecté chez les patients de 1 à 4 ans (6 cas) qui constitue la classe modale ; et de 5 à 14 ans (1 cas). Cependant il n'y a pas de relation statistiquement significative entre la circulation du VPIH1 et les classes d'âge ($p=0,062$). (Figure 11).

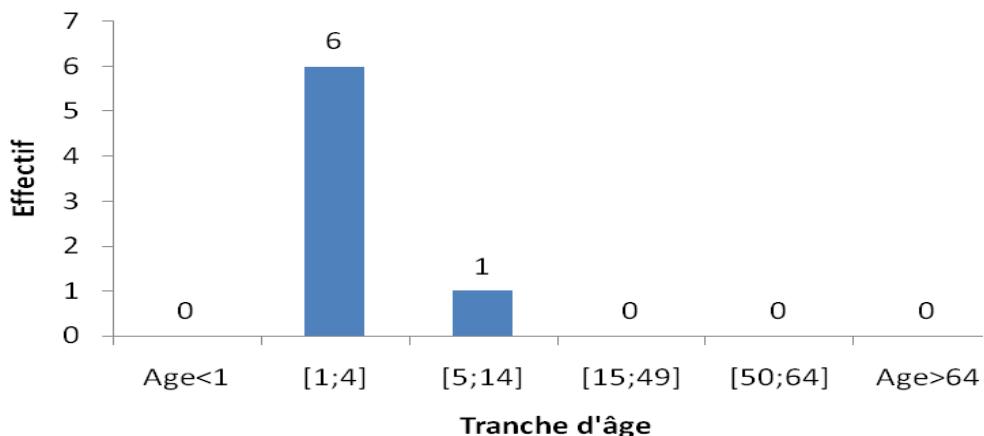


Figure 11 : Distribution du VPIH1 en fonction des tranches d'âge

➤ Pour le VPIH2

Le Virus Para influenza de type 2 a été détecté au niveau de toutes les classes d'âge de moins de 50 ans à des proportions presque similaires. Cependant il n'y a pas de relation statistiquement significative entre la circulation du VPIH2 et les classes d'âge ($p= 0,728$), (Figure 12).

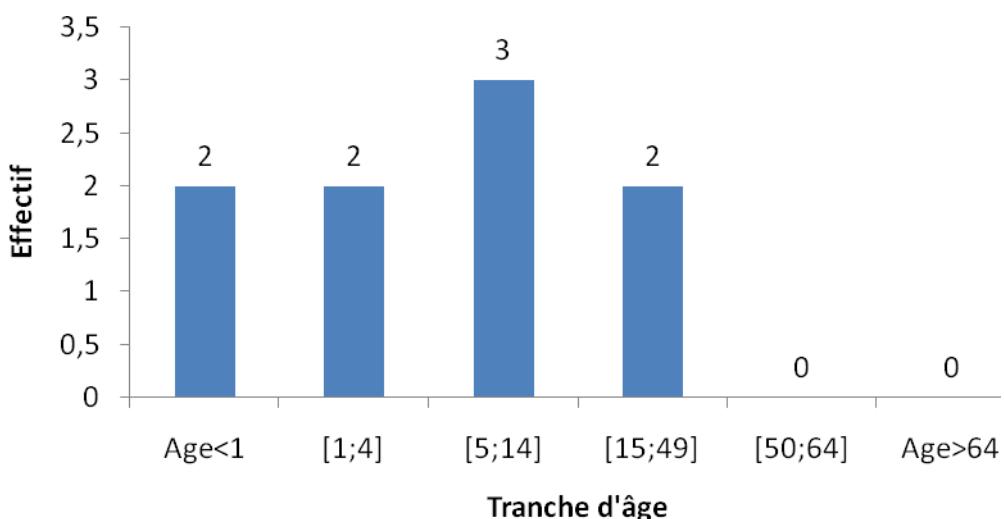


Figure 12 : Distribution du VPIH2 en fonction des tranches d'âge

➤ Pour le VPIH3

Le virus Para influenza de type 3 a été détecté au niveau de toutes les classes d'âge de moins de 50 ans. Elle est beaucoup plus fréquente chez les moins de 5 ans (42,86% des cas positifs avant 1an et 38,1% entre 1 et 4 ans). Nous avons trouvé une relation statistiquement significative entre la circulation du VPIH3 et les classes d'âge ($p=0,033$). La circulation du VPIH3 semble donc dépendre de l'âge (fréquence chez les sujets jeunes), (Figure 13).

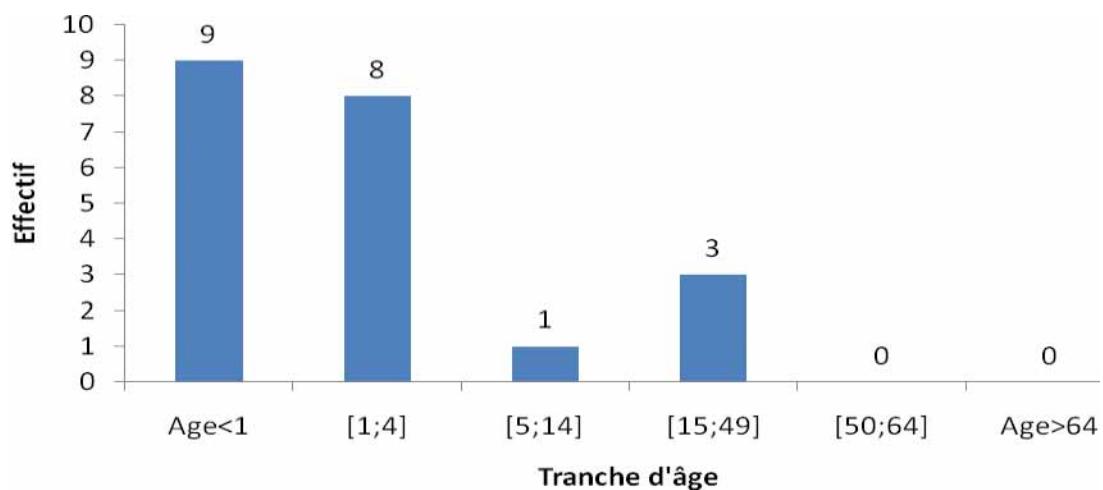


Figure 13 : Distribution du VPIH3 en fonction des tranches d'âge

VII.3.4. Distribution de chaque type de virus en fonction des périodes de l'année

➤ Pour le VRS

Le virus respiratoire syncytial circule pendant toutes les périodes de l'année de Janvier à Décembre mais atteint son pic en Septembre. Cependant il n'y a pas de relation statistiquement significative entre la distribution du VRS et les périodes de l'année ($p=0,129$), (Figure 14)

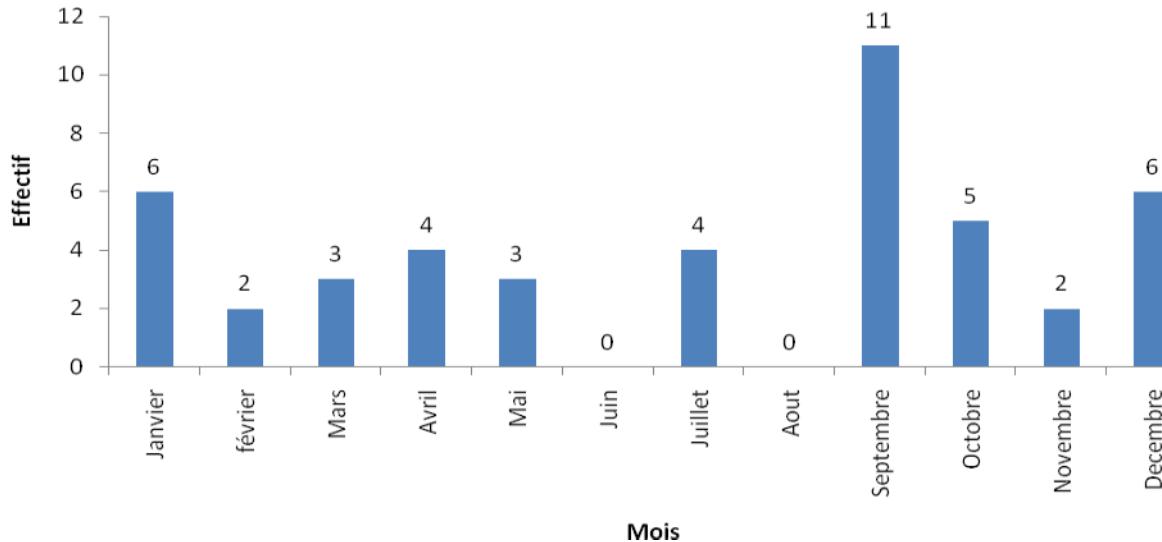


Figure 14 : Distribution du VRS en fonction des périodes de l'année

➤ Pour le MPVH

Le Métapneumovirus humain circule pendant toutes les périodes de l'année de Janvier à Décembre mais atteint son pic en Juillet. Nous avons constaté une relation statistiquement significative entre la distribution du MPVH et les périodes de l'année ($p=0,001$). La distribution du MPVH semble donc fonction des périodes de l'année. Il semble plus fréquent pendant les périodes allant de Juillet à Septembre (saison pluvieuse), (Figure 15)

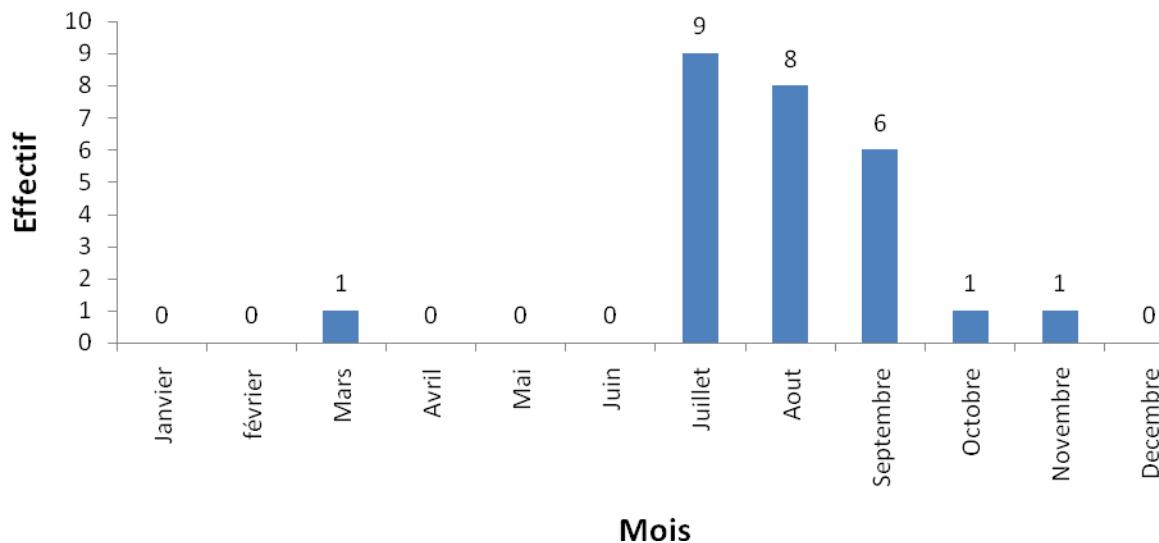


Figure 15 : Distribution du MPVH en fonction des périodes de l'année

➤ Pour le VPIH1

Le Virus Parainfluenza de type 1 circule pendant toutes les périodes de l'année en dehors des périodes allant de Mars à Mai et d'Octobre à Décembre. Cependant il n'y a pas de relation statistiquement significative entre la distribution du VPIH1 et les périodes de l'année ($p= 0,608$), (Figure 16).

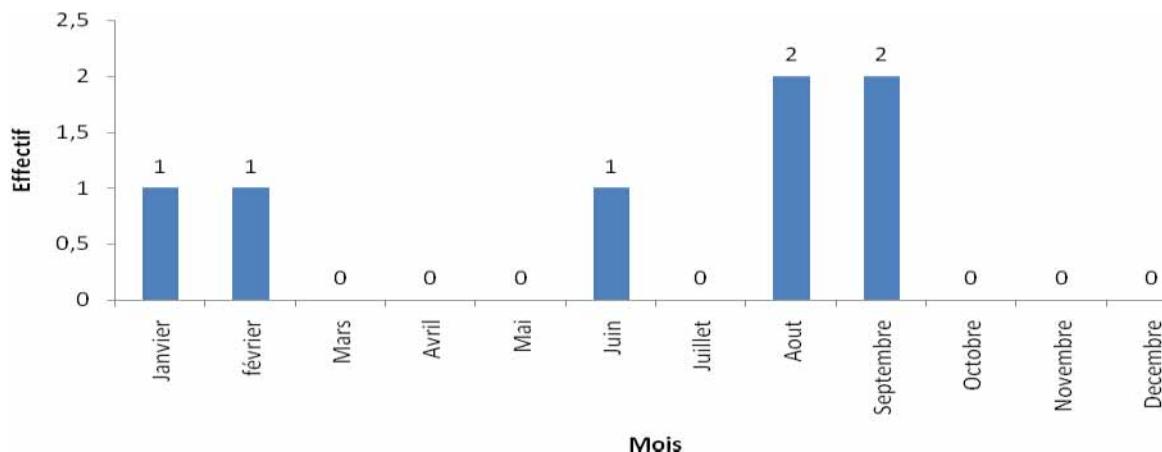


Figure 16 : Distribution du VPIH1 en fonction des périodes de l'année

➤ Pour le VPIH2

Le Virus Parainfluenza de type 2 a surtout circulé pendant les périodes de l'année suivantes : mars, juin, août, septembre et décembre. Cependant il n'y a pas de relation statistiquement significative entre la distribution du VPIH2 et les périodes de l'année ($p=0,119$), (Figure 17)

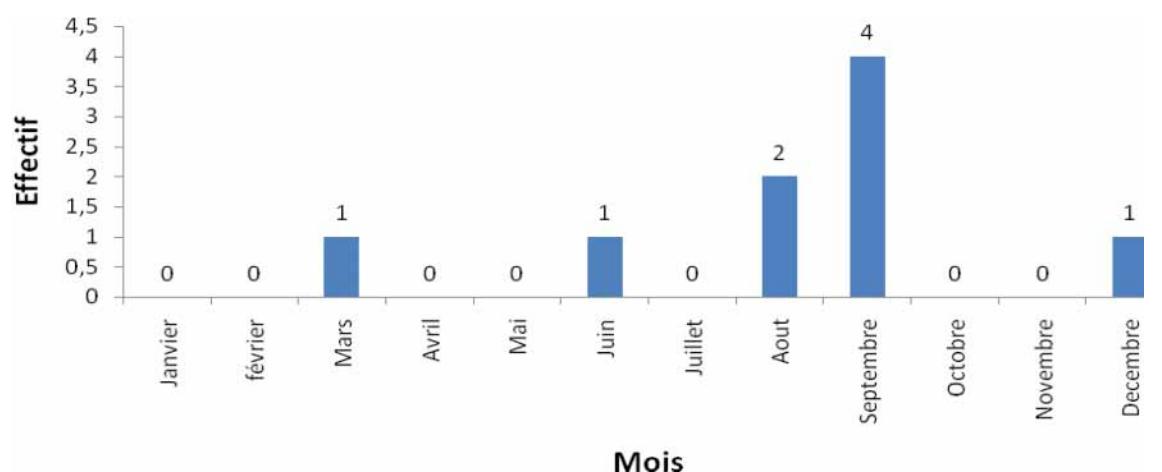


Figure 17 : Distribution du VPIH2 en fonction des périodes de l'année

➤ Pour le VPIH3

Le Virus Parainfluenza de type 3 a circulé pendant toutes les périodes excepté les mois de avril, mai, septembre, novembre. Il atteint son pic en août. Nous avons observé une relation statistiquement significative entre la distribution du VPIH3 et les périodes de l'année ($p= 0,002$). La distribution du VPIH3 semble donc fonction des périodes de l'année. Il semble plus fréquent pendant la saison pluvieuse (juin à août) et les périodes froides (décembre à Mars), (Figure 18).

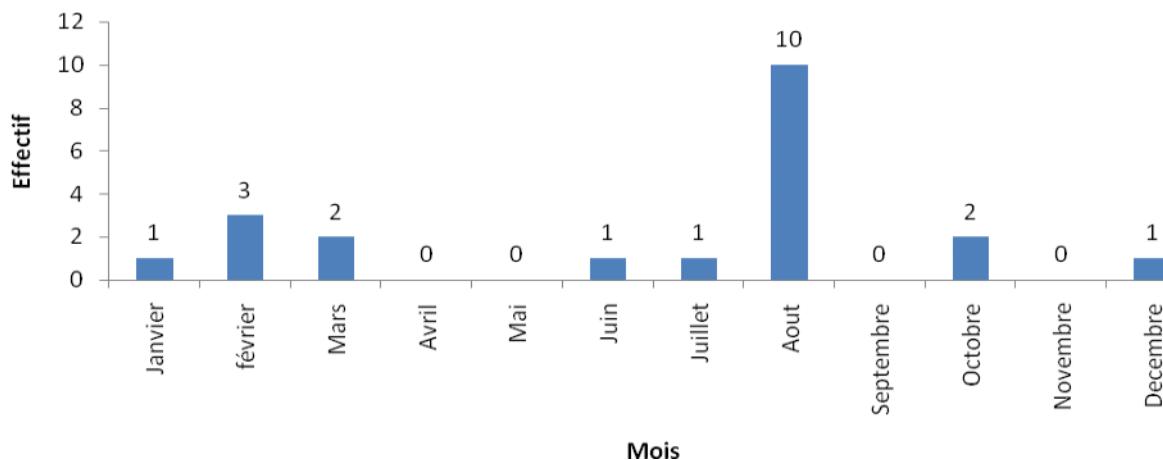


Figure 18: Distribution du PIV3 en fonction des périodes de l'année

VII.3.5. Impact des facteurs climatiques sur la circulation des différents virus

La moyenne des différents paramètres climatiques à Bobo Dioulasso sont :

- Température (°C) : 27,3 °C
- Pression atmosphérique (hPa) : 959,2 hPa
- Vitesse du vent (m/s) : 2,9 m/s
- Humidité relative maximale(%) : 77,4%
- Humidité relative minimale(%) : 40,3%
- Précipitation (mm) : 61,0 mm

Un facteur climatique est dit bas ou haut quand sa valeur est respectivement inférieure ou supérieure à sa valeur moyenne.

Après analyse statistique, nous n'avons pas trouvé d'influence des facteurs climatiques considérés et la circulation des virus VRS, VPIH 1, VPIH 2, VPIH3.

Seule la circulation du MPVH semble liée à certains facteurs climatiques qui sont : la température basse, l'humidité relative minimale haute, et les fortes précipitations (les valeurs de p sont respectivement de 4% ; 3% ; 0,1%). Le MPVH semble plus fréquente pendant les périodes froides et humides.

VII.4. RESULTAT DU CONTROLE DE QUALITE DU NAMRU-3

Un choix raisonné de 50 échantillons collectés en 2013 a été fait pour le contrôle de qualité externe effectué par le NAMRU-3 dont 28 échantillons positifs à l'influenza, 18 échantillons négatifs à l'influenza, et 4 échantillons pris aléatoirement. Nous avons constaté une concordance parfaite pour ce qui concerne les résultats obtenus pour les virus influenza.

Ces 50 spécimens ont eu les résultats suivants :

- Virus influenza (Flu): 56% (28/50) ; IC_{95%}= [42,24%-69,76%]
- Autres Virus respiratoires: 8% (4/50) ; IC_{95%}= [0,48%-15,5%]
- Adénovirus (ADV): 4% (2/50); IC_{95%}= [0, 5%-9, 5%]
- VRS: 2% (1/50); IC_{95%}= [0-6%]
- VPIH 2: 2% (1/50); IC_{95%}= [0-6%]
- VPIH1 : 0%
- VPIH2: 0%
- MPVH: 0%
- Un cas de co infection (ADV/FLU): 2% (1/50) ; IC_{95%}= [0-6%]

Ces résultats sont mieux représentés dans la figure 19.

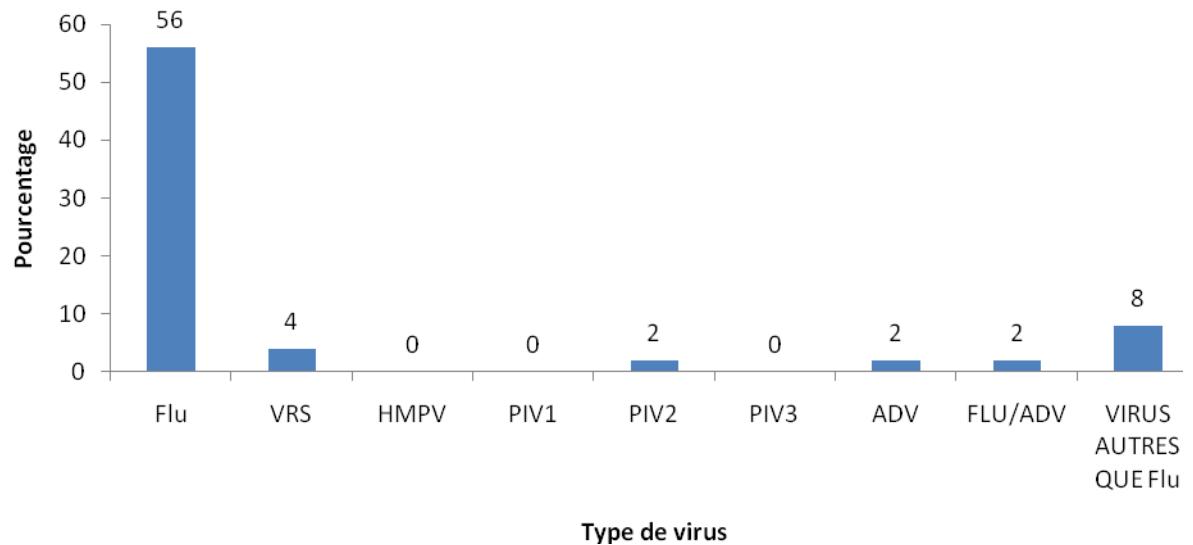


Figure 19: Répartition des différents virus détectés par le NAMRU-3

VIII.DISCUSSION ET COMMENTAIRES

VIII. DISCUSSION ET COMMENTAIRES

VIII.1. LES LIMITES ET LES CONTRAINTES DE L'ETUDE

La surveillance épidémiologique de la grippe à travers les syndromes grippaux est toujours à ses débuts au Burkina Faso. Les différents sites sentinelles n'avaient aucune expérience sur ces types d'étude.

A cela s'ajoute le manque de motivation des agents de santé, leur connaissance limitée de la grippe et de l'intérêt de sa surveillance.

L'état embryonnaire de la surveillance nous a conféré d'autres limites . La fiche de notification établie n'a pas pris certaines caractéristiques épidémiologiques de la population (Profession, lieu de résidence, existence de pathologies graves ou chroniques...).

Pour des raisons d'ordre matériel et logistique, nous ne pouvions rechercher que les virus influenza au sein du laboratoire du CNRG. Pour la recherche des autres virus respiratoires, il a fallu l'aide des partenaires du Luxembourg . Le coût de la PCR nichée étant assez onéreux, nous a contraints à analyser 796 spécimens sur les 921 spécimens négatifs. L'idéal aurait été d'analyser tout les 1036 spécimens disponibles. Cela constitue un frein important à notre étude vu que nous n'avons pas tenu compte des autres virus respiratoires au sein et des échantillons positifs au virus influenza pour ainsi détecté les coinfections, et les liens entre les différents virus.

Par ailleurs, il est vrai que nous avons analysé l'impact des facteurs climatiques avec la circulation des différents virus, mais le nombre réduit de notre échantillon, des cas positifs, et surtout la courte durée de notre période d'étude ne nous permet pas de dégager des tendances. L'étude de la saisonnalité d'une pathologie requiert des périodes de suivi beaucoup plus longues et plus élaborées.

VIII.2. LES CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION D'ETUDE

Nous avons effectué la recherche des autres virus respiratoires dans 796 spécimens négatifs au virus influenza.

Barakat *et al.* au Maroc en 2011 ont institué la surveillance de la grippe depuis 1996. Cette surveillance s'est étendue à l'ensemble du territoire avec un site dans chaque région et 110 praticiens privés qui collectent quotidiennement les cas de syndromes

grippaux [12]. Ceci a permis de collecter entre 2007 et 2009 près de 3102 patients [12]. C'est aussi le cas pour Kadjo *et al.*, (2012) qui ont collecté 5074 cas à partir de 26 sites sentinelles en 7 années de surveillance sur l'ensemble du territoire de la Côte d'Ivoire[15]. Pour le Burkina Faso, la majorité des prélèvements a été obtenue au CSPS de Colsama de Bobo-Dioulasso (567 prélèvements) tandis que les centres de santé de Bolomakoté, de Dô et les camps militaires représentent les sites sentinelles qui ont fournis des nombres réduits de prélèvements. Le nombre réduit de prélèvements provenant de ces centres de santé pourrait s'expliquer par leur faible taux de fréquentation par les patients.

L'âge moyen de la population d'étude était de 12,55 ans avec des âges extrêmes de 1 mois et 83 ans ; et une médiane de 5ans (signifiant que 50% des cas avaient moins de 5 ans). La jeunesse de la population d'étude pourrait s'expliquer par le fait que les jeunes sont plus vulnérables aux infections respiratoires pour des raisons aussi bien physiologiques et immunologiques que de mobilité [1, 2, 27, 64, 65] . Ainsi, Au Cameroun à Yaoundé, Njouom *et al.* ont constaté en 2010 que le tiers des patients reçus pour syndrome grippal avait moins de 5 ans avec un âge moyen plus élevé de 20,9 ans[67] . Des caractéristiques presque similaires de la population sont retrouvées dans l'étude de Villaran *et al* (2006 à 2010) en Amérique centrale (68,7%) [61] ; dans celle de Kadjo *et al.* en 2012 en Côte d'Ivoire(52%) [15] ; celle de Norosoa *et al.*, en 2009 à Madagascar (62,3%) [66] ; et de celle de Dosseh *et al.* à Dakar en 2000 (64,1 % ont moins de 15 ans) [68].

Parmi les patients enrôlés, il y'a presque autant d'hommes que de femmes avec un sexe ratio de 1,06218 (410/386) femmes pour 1 homme. Cela peut s'expliquer par le fait que la population d'étude est jeune et l'immunologie et la physiologie humaine ne varie presque pas en fonction du sexe chez les jeunes ; ce qui leurs fera réagir pareillement à l'infection virale [1, 2, 27, 64, 65].

VIII.3. CARACTERISTIQUES CLINIQUES DE LA POPULATION D'ETUDE

A l'inclusion, cinq symptômes ont été recherchés chez les patients. Ce sont : la fièvre, la toux, le mal de gorge, la diarrhée et les vomissements. Ces signes correspondent à la description du syndrome grippal selon le protocole national de surveillance de la

grippe et la définition OMS. Ils sont très peu spécifiques et sont également présents dans plusieurs autres affections infectieuses ou non infectieuses [1, 2, 27].

Les symptômes les plus fréquemment rencontrés chez les cas suspects étaient la toux (97,48 %) et la fièvre (93,08 %). Le mal de gorge était moins fréquent (49,06 %), ainsi que les vomissements (22,01 %) et la diarrhée (6,79 %) chez les patients. La fièvre devrait être enregistrée dans 100% des cas prélevés pour être en accord avec la définition du cas de SG. Cela n'est pas le cas car certains patients présentaient tous les symptômes de SG à l'inclusion à exceptée la fièvre. A l'interrogatoire ils affirmaient avoir pris des antipyrétiques. Les préleveurs sont parfois obligés d'effectuer le prélèvement pour ne pas occulter des cas de SG. La fréquence de la toux se justifie aussi par la pathogénie des infections respiratoires virales. Les virus vont entraîner une irritation et une inflammation (tuméfaction, rougeur, douleur, chaleur) de la muqueuse nasale accompagnée d'une production excessive de mucus, en ce moment la toux devient le moyen dont l'organisme dispose pour éviter l'accumulation du mucus dans les poumons. L'augmentation de la température centrale (fièvre) est un mécanisme physiologique immunitaire antiviral qui perturbe la biochimie des réPLICATIONS virales [69, 70]. Plus de 50% des participants à la surveillance n'ont pas manifesté de mal de gorge. Ceci pourrait s'expliquer par la jeunesse de la population du fait que ce signe peut passé inaperçue chez les tout petits. La diarrhée et les vomissements sont des signes digestifs en réaction à l'infection virale ; ce qui les fait apparaître au second plan à l'opposé des cas des gastro-entérites aigües virales où ils sont les maîtres symptômes.

Des caractéristiques cliniques presque similaires aux nôtres ont été observées dans plusieurs pays. C'est le cas de la Corée du sud (2003 à 2005), où Ju *et al.*, ont enregistré: la toux (92,8%), la fièvre (60,2%), la diarrhée (7,2%), et les vomissements (7,2%) [57]. Reiche *et al.*, (2000-2010) ont aussi trouvé que les symptômes majeurs que présentaient la plupart des patients étaient la fièvre, la toux en Allemagne[24] ; de même que Pierangeli *et al.*, en Rome en 2009 [63]. Villaran *et al* (2006 à 2010) en Amérique centrale [61] et Norosoa *et al.*, en 2009 à Madagascar [66] trouvèrent aussi que les symptômes majeurs chez les cas de syndromes grippaux étaient la fièvre, la toux et les maux de gorge. C'est aussi le cas au Cameroun en 2009 avec l'étude de

Richard *et al.*, qui observa : la fièvre (100%) ; la toux (91,1%) ; les maux de gorge (31,7%) ; les vomissements (14,8%) ; et la diarrhée (9,3%) [75]. Des proportions presque similaires de fièvre ont été observées à Abidjan en 2000, dans l'étude de Akoua *et al.*, (98%) [71] ; en 2009 au Pérou avec l'étude de Laguna-Torres *et al.* (80%) [72]. L'étude des caractéristiques cliniques des populations est importante car selon l'OMS, elle permet d'obtenir des définitions de cas normalisées des infections respiratoires aigües chez l'homme applicable à tous les pays. Cela permet ainsi de comparer les résultats entre les différents pays et régions et d'améliorer la lutte contre la maladie[73].

VIII.4. LES TYPES DE VIRUS DETECTES DANS LA POPULATION D'ETUDE

VIII.4.1. Prévalence des types et sous types de virus respiratoires

Sur les 796 prélèvements analysés, les autres virus respiratoires ont été détectés chez 109 patients (13,7%). Les virus respiratoires détectés sont au nombre de cinq : le Virus respiratoire syncytial (VRS) dans 5,78% des cas ; le Métapneumovirus humain (MPVH) dans 3,27% des cas ; le Virus Para influenza Humain 3 (VPIH3) dans 2,64% des cas ; le VPIH 2 dans 1,13% des cas et le VPIH1 dans 0,88% des cas. Aucune co-infection parmi ces différents virus n'a été enregistrée. Les infections respiratoires à ces virus causent un SG impossible à différencier cliniquement de la grippe, d'autres infections ou même d'autres maladies non infectieuses [46, 49, 54-59].

-Pour le VRS, un résultat similaire au notre a été enregistré au Cameroun en 2009 avec l'étude de Richard *et al.* (5,7%) [75]. Cependant ces résultats sont différents de celles de plusieurs autres études. C'est le cas de l'étude de Luis *et al.* (2002) au Brésil (48%)[49] ; et de celle de Almasri *et al.* (2003-2004) en Grèce de 20,7%[60] . C'est aussi le cas en Chine, en Inde et en Corée de sud [62, 64,65]. Ces résultats sont aussi différents de l'étude de Awatef *et al.* (2011) en Tunisie (45,29%)[14] ; de celle de Bigogo *et al.* (2011) au Kenya (12%)[25] ; celle de Kadjo *et al.* (2003-2010) en côte d'ivoire (24%) [15] ; et celle de Norosoa *et al.*, en 2009 à Madagascar (21,2%) [66]. Cette différence pourrait s'expliquer par la taille relativement faible de notre échantillon par rapport aux leurs ; et surtout aussi par le fait que leurs populations

d'étude sont beaucoup plus jeunes que la nôtre. En effet, les jeunes enfants seraient plus vulnérables au VRS[48, 49].

-Pour le MPVH, des résultats presque similaires aux nôtres ont été obtenus dans l'étude de Richard *et al.* (5%) au Cameroun en 2009 [75] ; de Terho *et al.*(2001) en Finlande(3,5%)[55] ; celle de Ju *et al.* (2005) en Coré(7,3%) [57] ; celle de Singh *et al.* (2012) en Inde (1,1%) [65] ; et celle de Reiche *et al.*, (2000-2010) en Allemagne(3%)[24]. Mais on nota une différence importante de nos résultats avec celles de certaines études comme celle de Luis *et al.* (2002) en Brésil (17%) [49]. Cette différence pourrait s'expliquer entre autre par la différence de climat entre le Brésil et le Burkina Faso ; par la petite taille de leur échantillon (111cas au Brésil contre 796 cas chez nous) ; et leurs populations d'étude beaucoup plus jeunes que la nôtre. En effet, les enfants seraient plus sensibles à l'infection au MPVH [49, 54-59].

-Pour VPIH, des résultats presque similaires aux nôtres ont été enregistrés dans l'étude de Villaran *et al* (2006-2010) en Amérique centrale (3,2% pour les 3 VPIH) [61] ; celle de Wen-Kuan *et al.* (2009-2010) à Guangzhou en Chine (2,1% pour VPIH -3; 1,2% pour VPIH -1; 0,4% pour VPIH -2) [53] ; celle de Naiying *et al.* à Beijing en Chine (1% pour le VPIH2) [52] ; celle de Ju *et al.* (2005) en Coré du Sud (2,4%) [57] ; celle de Norosoa *et al.*, en 2009 à Madagascar (2,9% pour le VPIH 3 ; et 2,3% pour le VPIH 1) [66] ; et dans l'étude de Richard *et al.* (VPIH 1-4 : 7,5%) au Cameroun en 2009 [75]. Mais des différences de résultats existent avec celles de certaines études comme celle de Chen *et al.* (2008-2010) en Chine pour le VPIH 3 (15.41%) [62] et celle de Kadjo *et al.* (2003-2010) en côte d'ivoire (16%) [15]. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que la quasi-totalité de leurs populations d'étude était très jeune. En effet, les jeunes enfants seraient plus vulnérables au VPIH [50-53].

VIII.4.2. Répartition en fonction du sexe et de l'âge

Les 5 virus respiratoires ont été repartis en fonction du sexe. Mais, nous n'avons pas trouvé de relation statistiquement significative entre la répartition de chacun des virus en fonction du sexe. La valeur de p est toujours supérieur 5% dans tous les 5 cas. Un résultat identique a été enregistré au Cameroun avec l'étude de Richard *et al.* en 2009 [75]. Cela pourrait s'expliquer par la jeunesse de la population d'étude. En effet

l'immunologie et la physiologie humaine ne varie presque pas en fonction du sexe chez les sujets jeunes, ce qui pourrait expliquer que les sujets jeunes garçons et filles réagissent pareillement à l'infection virale [1, 2, 27, 64, 65].

-Le virus respiratoire syncytial (VRS) a une fréquence élevée surtout chez les patients jeunes (moins de 5 ans). Un résultat similaire a été obtenu par l'étude de Luis *et al.* (2002) en Brésil [49] ; celle de Ju *et al.* (2005) en Coré [57] ; celle de Singh *et al.* (2012) en Inde [65] ; de Richard *et al.* en 2009 au Cameroun [75] et celle de Kadjo *et al.* (2003-2010) en côte d'ivoire [15]. Cependant, il n'y a pas de relation statistiquement significative entre la distribution du VRS et les tranches d'âge ($p=0,119$). Ce résultat pourrait s'expliquer par la taille relativement faible de notre échantillon.

-Le MPVH est plus fréquent avant l'âge de 5 ans. La répartition du MPVH est fonction de l'âge ($p= 0,003$). Ce résultat similaire a été enregistré par l'étude de Richard *et al.* en 2009 au Cameroun [75] ; de Luis *et al.* (2002) au Brésil [49] ; celle de Ju *et al.* (2005) en Coré du Sud [57] ; celle de Singh *et al.* (2012) en Inde [65] ; celle de Terho *et al.* (2001) en Finlande [55] et celle de Reiche *et al.*, (2000-2010) en Allemagne [24]. Cela pourrait s'expliquer par la vulnérabilité immunologique et physiologique des sujets jeunes aux infections respiratoires par ces virus [49, 54-59].

-Le VPIH1 a été surtout détecté seulement chez les patients de moins de 4 ans ; cependant il n'y a pas de relation statistiquement significative entre la circulation du VPIH 1 et les classes d'âge ($p= 0,062$).

-Le VPIH 2 a été seulement détecté au niveau de toutes les classes d'âge de moins de 50 ans à des proportions presque similaires ; il n'y a pas non plus de relation statistiquement significative entre la circulation du PIV2 et les classes d'âge ($p= 0,728$).

Dans plusieurs études, la fréquence du VPIH 1 et 2 est plus élevée chez les sujets jeunes. C'est le cas dans l'étude Villaran *et al* (2006 à 2010) en Amérique centrale [61] ; de celle de Wen-Kuan *et al.* (2009-2010) à Guangzhou [53] ; celle de Kadjo *et al.* (2003-2010) en côte d'ivoire [15] ; de Richard *et al.* en 2009 au Cameroun [75] ; et de Norosoa *et al.*, en 2009 à Madagascar [66]. Nos résultats statistiques pourraient

s'expliquer par le faible nombre de cas positifs dans notre échantillon ; et de sa taille relativement faible pour trois années de surveillance.

-Le Virus Para influenza de type 3 est beaucoup plus fréquent chez les moins de 5 ans ; sa circulation dépend de l'âge ($p= 0,033$). Des résultats presque similaires ont été trouvés dans plusieurs localités. C'est le cas de l'étude de celle de Wen-Kuan *et al.* (2009-2010) à Guangzhou (Chine) [53] ; de celle de Villaran *et al.* (2006 à 2010) en Amérique centrale [61] ; celle de Kadjo *et al.* (2003-2010) en côte d'ivoire[15] ; de Richard *et al.* en 2009 au Cameroun [75] ; et de Norosoa *et al.*, en 2009 à Madagascar [66]. Cela peut s'expliquer par la vulnérabilité immunologique et physiologique des sujets jeunes aux infections respiratoires à ces virus [50-53].

VIII.4.3. Répartition en fonction des périodes de l'année

Le virus respiratoire syncytial circule pendant toutes les périodes de l'année de Janvier à Décembre mais atteint son pic en Septembre. Cependant il n'y a pas de relation statistiquement significative entre la distribution du VRS et les périodes de l'année ($p= 0,129$). Pourtant selon Swapnil *et al.* et Luis E *et al.* ; le VRS sévirait surtout pendant les périodes hivernales [48, 49]. Cette différence pourrait s'expliquer par la taille relativement faible de notre échantillon et la courte durée de notre étude qui ne nous permet pas de dégager une saisonnalité.

-Le Métapneumovirus humain circule pendant toutes les périodes de l'année de janvier à décembre mais atteint son pic en juillet. Nous avons trouvé une relation statistiquement significative entre la distribution du MPVH et les périodes de l'année ($p=0,001$). La distribution du MPVH semble donc fonction des périodes de l'année. Il semble plus fréquent pendant les périodes allant de juillet à septembre (saison pluvieuse). Un résultat presque similaire a été obtenu par Singh *et al.* (2012) en Inde [65] et par Richard *et al.* en 2009 au Cameroun [75]. L'analyse de l'impact des facteurs climatiques sur la circulation du MPVH nous éclaircira mieux cette grande fréquence en saison pluvieuse.

-Le Virus Para influenza de type 1 circule pendant toutes les périodes de l'année en dehors des périodes allant de mars à mai et d'octobre à décembre. Cependant il n'y a pas de relation statistiquement significative entre la distribution du VPIH1 et les

périodes de l'année ($p= 0,608$). C'est aussi le cas du VPIH 2 ($p=0,119$) ; mais cela est différent pour le VPIH 3. Cette différence pourrait s'expliquer par le nombre bas de cas positif des VPIH 1 et VPIH 2 dans notre échantillon ; et de sa taille relativement faible.

-Le Virus Para influenza de type 3 a circulé pendant toutes les périodes excepté les mois d'avril, mai, septembre, et novembre. Il atteint son pic en août. Nous avons trouvé une relation statistiquement significative entre la distribution du VPIH 3 et les périodes de l'année ($p= 0,002$). La distribution du VPIH 3 semble donc fonction des périodes de l'année. Il semble plus fréquent pendant la saison pluvieuse (juin à août) et les périodes froides (décembre à février). L'analyse de l'impact des facteurs climatiques sur la circulation du VPIH 3 nous aidera à mieux comprendre sa grande fréquence en saison pluvieuse (pluviométrie et humidité relative) et en saison froide (température). Mais ne perdons surtout pas de vue que notre période d'étude est courte (3ans) ; pourtant l'étude de la saisonnalité d'une pathologie requiert des périodes de suivi beaucoup plus longues et plus élaborées.

VIII.4.4. Influence des facteurs climatiques sur la circulation des différents virus

Nous n'avons pas de lien entre les facteurs climatiques et la circulation des virus suivants : VRS, VPIH1, VPIH 2, VPIH 3. Seule la circulation du MPVH semble liée à certains facteurs climatiques qui sont : la température basse, l'humidité relative minimale haute, et les fortes précipitations (les valeurs de p sont respectivement de 4% ; 3% ; 0,1%).

Il nous apparaît donc clairement que le MPVH est plus fréquent pendant la saison pluvieuse et les saisons froides. Un résultat presque similaire a été trouvé par Singh *et al.* (2012) en Inde [65] et par Richard *et al.* en 2009 au Cameroun [75]. En effet, la fragilisation des muqueuses respiratoires provoquée par les variations de l'humidité relative de l'air et la baisse de l'immunité pendant les périodes froides pourrait expliquer ce résultat [48, 54-59, 74].

Hongxia *et al.* (2010) à Zhuhai en Chine a trouvé contre un lien entre la circulation du VRS et les basses températures [64]. Selon Swapnil *et al.* et Luis *et al.* ; la circulation du VRS dépendrait des facteurs climatiques [49, 50].

Selon Luis *et al.* ; Henrick *et al.*; et Wen-Kuan *et al.* ; la circulation des VPIH dépendrait aussi des facteurs climatiques [48-53].

Cette différence de ces résultats au niveau du VRS et des VPIH pourrait s'expliquer par notre taille d'échantillon relativement faible, le nombre bas de nos cas positifs, et surtout la courte durée de notre étude qui ne nous permet pas de dégager des tendances. Pourtant l'étude de la saisonnalité nécessite plusieurs années de surveillance.

CONCLUSION

CONCLUSION

La surveillance épidémiologique des syndromes grippaux a été établie pendant la période post pandémique de 2009 au Burkina Faso. Certains aspects épidémiologiques, cliniques, et virologiques ont été décrits. La prévalence de la grippe (Virus influenza) au cours de la première année de surveillance n'était que de 6,79%. Il convenait donc de rechercher les autres virus respiratoires pouvant causer des syndromes grippaux au Burkina ; d'où l'intérêt de notre étude.

Sur le plan sociodémographique, nous avons constaté que surtout les sujets jeunes présentaient le plus des cas de syndromes grippaux. Cette symptomatologie grippale était surtout dominée cliniquement par la toux et la fièvre ; ensuite venaient les maux de gorge, et enfin les vomissements et la diarrhée.

Sur le plan virologique, cinq autres virus respiratoires ont été détectés et représentaient 13,70% (109/796) de notre échantillon. Il s'agit du Virus respiratoire syncytial (5,78%) ; du Métapneumovirus humain (3,27%); du Virus Para influenza de type 3 (2,64%); du Virus Para influenza de type 2 (1,13%) ; et du Virus Para influenza de type 1 (0,88%).

L'influence de certains facteurs climatiques a été clairement démontré sur la circulation de certains virus. La circulation d'autres virus était fonction de l'âge. C'est le cas du MPVH qui semble surtout fréquent chez les enfants de moins de 5ans, et sévirait plus pendant la saison pluvieuse et les périodes froides. C'est aussi le cas du VPIH 3 qui sévirait plus chez les enfants de moins de 5 ans.

Cette étude pionnière dans le domaine de la pathologie respiratoire virale fait un état des lieux de l'épidémiologie des autres virus respiratoires dans les sites sentinelles de surveillance des SG pour la première fois au Burkina Faso. Elle fait partie également d'une des premières en Afrique, surtout en Afrique de l'Ouest. Elle espère susciter d'autres intérêts pour des études plus approfondies. Pour ce faire, la surveillance des syndromes grippaux doit se poursuivre et même être renforcée, afin de mieux participer à l'effort international pour la lutte contre la pathologie respiratoire.

SUGGESTIONS

SUGGESTIONS

➤ Au ministre de la Santé.

-Promouvoir et renforcer la surveillance des syndromes grippaux afin de passer de la surveillance sentinelle à une surveillance de routine sur l'ensemble du territoire national.

-Renforcer le plateau technique du laboratoire du CNRG pour qu'en plus de la surveillance des virus influenza par PCR on puisse associer une surveillance virologique (isolement du virus sur culture cellulaire) ; et y effectuer la recherche des autres virus respiratoires.

➤ Aux partenaires bilatéraux et multilatéraux.

Consolider les liens de partenariat et assurer un engagement durable des soutiens financiers et techniques dans la surveillance épidémiologique des syndromes grippaux à travers un financement conséquent de la recherche.

➤ Aux praticiens

Connaître et maîtriser la symptomatologie grippale et tenir compte des autres virus respiratoires dans la prise en charge des SG.

➤ A la population générale.

Utiliser davantage les services de santé en consultant dès l'apparition des premiers symptômes grippaux.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. WHO, Grippe (saisonnière), Aide-mémoire N°211, 2009.
2. OMS, Thèmes de santé, 2011.
3. Martin P, 2,500-year evolution of the term epidemic. *Emerg Infect Dis* 2006, vol 12, 6.
4. Potter, C.W., A history of influenza. *J Appl Microbiol*, 2001. 91(4): p. 572-9.
5. Buisson Y, Nicand E, Saliou P ; La grippe en face, Edition Xavier Montauban 2006, 224 s
6. Elizabeth Fee, Theodore M. Brown, and Paul Theerman, The Influenza Pandemic of 1918. *American Journal of Public Health* 2001.
7. Hannoun, C., Plans against influenza pandemics in Europe: history and principles. *Euro Surveill*, 1998. page 26-28.
8. Hannoun, C., Natural history of influenza. *Rev Prat*, 2008. page 1645-54.
9. Hannoun, C., The evolving history of influenza viruses and influenza vaccines. *Expert Rev Vaccines*, 2013. page 1085-94.
10. Dapat, I. C. Dapat, C. Baranovich, T. Suzuki, Y. Kondo, H. Shobugawa, *and al.*, Genetic characterization of human influenza viruses in the pandemic (2009-2010) and post-pandemic (2010-2011) periods in Japan. *PLoS One* 2012.
11. Badar N, B.A.U., Mehmood MR, Nisar N, Alam MM, Kazi BM, Zaidi SS., Influenza virus surveillance in Pakistan during 2008-2011. *PLoS One*. 2013 Nov 8;8(11):e79959. doi: 10.1371/journal.pone.0079959. eCollection 2013.
12. Barakat, A. Ihazmad, H. Benkaroum, S. Cherkaoui, I. Benmamoun, A. Youbi, *and al.*, Influenza surveillance among outpatients and inpatients in Morocco, 1996-2009. *PLoS One*.
13. Barakat, A. Ihazmad, H. El Falaki, F. Tempia, S. Cherkaoui, I. El Aouad, R., 2009 Pandemic influenza A virus subtype H1N1 in Morocco, 2009-2010: epidemiology, transmissibility, and factors associated with fatal cases. *J Infect Dis*. 206 Suppl 1: page S94-100.

14. Awatef El Moussi, Francisco Pozo, Mohamed Ali Ben Hadj Kacem, Juan Ledesma, Maria Teresa Cuevas, Inmaculada Casas, *and al.*, Virological Surveillance of Influenza Viruses during the 2008–09, 2009–10 and 2010–11 Seasons in Tunisia. September 2013. Volume 8 (Issue 9): page e74064.
15. Kadjo HA, Ekaza E, Coulibaly D, Kouassi DP, Nzussou NT, Kouakou B, *and al.*, Sentinel surveillance for influenza and other respiratory viruses in Côte d'Ivoire, 2003-2010. *Influenza Other Respir Viruses*. 2013 May; 7(3):296-303. doi: 10.1111/j.1750-2659.2012.00389.x. Epub 2012 Aug 2.
16. Richard Njouom, Serge A Sadeuh Mba, Dominique Noah Noah, Victoria Gregory, Patrick Collins, Pierre Cappy, *and al.*, Circulation of human influenza viruses and emergence of Oseltamivir-resistant A(H1N1) viruses in Cameroon, Central Africa. Njouom et al. *BMC Infectious Diseases* 2010, 10:56.
17. Ibrahim T. Dalhatu¹, A.M.-M., Sonja J. Olsen, Inzune Hwang, *and al.*, Influenza Viruses in Nigeria: Results From the First 17 Months of a National Influenza Sentinel Surveillance System. *Oxford Journals Medicine The Journal of Infectious Diseases*, 2009-2010. 206 (suppl 1P page S121-S128).
18. Daniel R Feikin, Maurice O Ope, Barrack Aura, James A Fuller, Stella Gikunju,a John Vulule, *and al.*, The population-based burden of influenza-associated hospitalization in rural western Kenya, 2007-2009. *Bull World Health Organ*; 90:256-263A 2012.
19. Badziklou K, Banla A, Maman I, Halatoko J, Ekouhoho A, Issa Z, *and al.*, Data on Virological Surveillance of Influenza in Togo during Year 2011. 3rd Annual African Network for Influenza Surveillance and Epidemiology (ANISE) Meeting February 1-3, / Nairobi, Kenya. , 2012.
20. Ayele W, D.G., Kassa W, Mengesha M, Afework A *and al.*, A Review of Laboratory-Confirmed Cases of Influenza A(H1N1)pdm2009 in Ethiopia; 3rd Annual African Network for Influenza Surveillance and Epidemiology (ANISE) Meeting February 1-3, / Nairobi, Kenya. , 2012.

21. Rajatonirina S, Randrianasolo L., Orelle A, Razanajatovo N H, Raoelina YN, Ravolomanana L, *and al.* (2012) Influenza-like Illness Sentinel Surveillance using a Reporting System, Madagascar, 2008 - 2010 3rd Annual African Network for Influenza Surveillance and Epidemiology (ANISE) Meeting February 1-3/ Nairobi, Kenya, 2012.
22. Conteh I N, Kebede S, Steffen , Vandemaele K , Wurie I, Alemu Kuti-George *and al.*, Establishing Sentinel Influenza Surveillance in Sierra Leone. 3rd Annual African Network for Influenza Surveillance and Epidemiology (ANISE) Meeting February 1-3, / Nairobi, Kenya. , 2012.
23. Nkwembe E, Karhemere S, Bankoshi F, babakazo P, Kebela B, et al About the Seasonality of Influenza in Kinshasa, DRCongo in 2009 - 2011. 3rd Annual African Network for Influenza Surveillance and Epidemiology (ANISE) Meeting February 1-3/ Nairobi, Kenya 2012.
24. Reiche J, Neubauer K, Hafemann S, Nitsche A, Milde J, Wolff T, Schweiger B., Human metapneumovirus: insights from a ten-year molecular and epidemiological analysis in Germany. *PLoS One.* 2014 Feb 5;9(2):e88342. doi: 10.1371/journal.pone.0088342. eCollection 2014., 2014.
25. Bigogo GM, Feikin DR, Audi AO, Aura B, Cosmas L, Njenga MK, *and al.*, Epidemiology of respiratory syncytial virus infection in rural and urban Kenya. *J Infect Dis.* 2013; 15;208 Suppl 3:S207-16. doi: 10.1093/infdis/jit489.,
26. Tarnagda Z, O.A., Kagone T, Cisse A, Valea D, Zampa H, *et al.*, Virological Surveillance of Influenza-like Illness in Burkina Faso: Preliminary Results, 2010 - 2011. 3rd Annual African Network for Influenza Surveillance and Epidemiology (ANISE) Meeting February 1-3/ Nairobi 2012.
27. OMS. Thèmes de santé. 2014;
28. Tognotti, E., Influenza pandemics: a historical retrospect. *J Infect Dev Ctries,* 2009. 3(5): page 331-4.
29. Jeffery K. Taubenberger and David M. Morens; 1918 Influenza: the Mother of All Pandemics. *Emerging Infectious Diseases* 2006, Vol. 12, No. 1.
30. David M. Morens, M., Jeffery K. Taubenberger, *and al.*, The 1918 influenza pandemic: Lessons for 2009 and the future. *Crit Care Med.,* Avril 2010.

31. Seth J. Sullivan, M.R.M.J., MD; Walter R. Dowdle, PhD; and Gregory A. Poland, MD, 2009 H1N1 Influenza. January 2010.
32. OMS, Thème de santé, 2010.
33. OMS, Thème de santé, 2012.
34. OMS, Alerte et action au niveau mondiale, 2012.
35. Partouche, H. Benainous, O. Barthe, J. Pierret, J. Rigal, L. Michaloux, M. Gilberg, S., A survey about determinants of 2009 pandemic influenza A(H1N1) vaccination among French general practitioners patients. Motivac study. Rev Prat. 61(10): page 1411-7.
36. OMS, Statistiques officielles de l'OMS et de la FAO. 2012.
37. Maurizia Debiaggi, Filippo Canducci, Elisa Rita Ceresola and Massimo Clementi, The role of infections and coinfections with newly identified and emerging respiratory viruses in children. Virology Journal, 2012.
38. J S M Peiris, S T Lai, L L M Poon and all, Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. The Lancet, 2003. 361.
39. OMS, Plan mondial OMS de préparation à une pandémie de grippe, 2005.
40. Gessner BD, Shindo N, Briand S ; Seasonal influenza epidemiology in sub-Saharan Africa: a systematic review; Lancet Infect Dis 2011;11:223-35
Doi:101016/S1473-3099(11)70008-1
41. La surveillance de la grippe: site santé du ministère Français de la santé et des affaires sociales, consulté le 14/02/2014.
42. Jefferson, T. Foxlee, R., Del Mar, C., Dooley, L. L. Ferroni, E. Al-Ansary, and al., Physical interventions to interrupt or reduce the spread of respiratory viruses: systematic review. BMJ, 2009. 339: page b3675.
43. Barnhofer, T. Crane, C. Hargus, E. Amarasinghe, M. Winder, R. Williams and al.; Mindfulness-based cognitive therapy as a treatment for chronic depression: A preliminary study. Behav Res Ther, 2009. 47(5): page 366-73.
44. Lee, Y. T. Kim, K. H. Ko, E. J. Lee, Y. N. Kim, M. C. Kwon and al.; New vaccines against influenza virus. Clin Exp Vaccine Res. 3(1): page 12-28.

45. Petukhova, N. V. Ivanov, P. A. Migunov, A. I., Virus-like particles--a new strategy for production of vaccines against influenza virus. *Vopr Virusol.* 58(2): page 10-4.
46. Simona P, Catia V, MArco C, Francesca F, Muhammed B-M, Carlo F P and al., Viral causes of Influenza-Like Illness: Insight from a stydy during the Winters 2004-2007. *Journal of Medical Virology*, 2009.
47. Andres Chang and Rebecca E. Dutch, Paramyxovirus Fusion and Entry: Multiple Paths to a Common End. Department of Molecular and Cellular Biochemistry, University of Kentucky College of Medicine,Lexington, KY 40536, USA.
48. Swapnil Subhash Bawage, Pooja Munnilal Tiwari, Shreekumar Pillai, Vida denis, and Shree Ram Singh, Recent advances in diagnosis,prevention and traitemet of Human Respiratory Syncytial Virus. Review article, 2013.
49. Luis E. Cuevas, Abubaker M. Ben Nasser,Winifred Dove,Ricardo Q. Gurgel,Julie Greensill, and C. Anthony Hart, Human Metapneumovirus and Respiratory Syncytial Virus. *Emerging Infectious Diseases*, December 2003. Vol. 9, No. 12.
50. Henrick Schomacher, Anne Schaapp, Peter L. Collins, and Alexender C Schmidt, Pathogenesis of acute respiratory ilness caused by human parainfluenza viruses. National Institutes of Health, 2012.
51. Liqun Zhang, Peter L. Collins, Robert A. Lamb, and Raymond J. Pickles, Comparison of Differing Cytopathic Effects in Human Airway Epithelium of Parainfluenza Virus 5 (W3A), Parainfluenza Virus Type 3, and Respiratory Syncytial Virus. National Institutes of Health, 2011. 421(1): 67–77. doi:10.1016/j.virol.2011.08.020.
52. Naiying Mao, Yixin Ji, Zhengde Xie, Huanhuan Wang and al., Human Parainfluenza Virus-Associated Respiratory TractInfection among Children and Genetic Analysis of HPIV-3 in Beijing, China. *PLOS ONE*, August 2012. Volume 7(Issue 8): page e43893.

53. Wen-Kuan Liu, Q.L., De-Hui Chen, Huan-Xi Liang, Xiao-Kai Chen, Wen-Bo Huang, *and al.*, Epidemiology and clinical presentation of the four human parainfluenza virus types. Liu et al. BMC Infectious Diseases 2013. 13:28.
54. Paul K.S. Chan, John S. Tam, Ching-Wan Lam, Edward Chan, Alan Wu, Chi-Kong Li, *and al.*, Human Metapneumovirus Detection in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. Emerging Infectious Diseases, September 2003. Vol. 9, No. 9.
55. Terho Heikkinen, Riikka Österback, Ville Peltola, Tuomas Jartti, and Raija Vainionpää, Human Metapneumovirus Infections in Children. Emerging Infectious Diseases January 2008. Vol. 14, No. 1.
56. Verena Schildgen, Bernadette van den Hoogen, Ron Fouchier, Ralph A. Tripp, Rene Alvarez, Catherine Manoha, *J and al.*, Human Metapneumovirus: Lessons Learned over the First Decade. Clinical Microbiology reviews, 2011.
57. Ju Young Chung, Tae Hee Han, Byung Eui Kim, Chang Keun Kim, Sang Woo Kim, Eung-Soo Hwang, Human Metapneumovirus Infection in Hospitalized Children with Acute Respiratory Disease in Korea. J Korean Med Sci 2006; 21: 838-42ISSN 1011-8934.
58. Bernadette G. Van Den Hoogen, *and al.* Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. Pediatr Infect Dis J, 2004.
59. Van Den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, *et al*; A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. Nat Med 2001. 7: 719-724.
60. Almasri M, PAPA A, Souliou E, Haidopoulou K, Eboriadou M, Respiratory syncytial virus infection in hospitalised children older than 2 years with community-acquired pneumonia. Hippokratia, 2013.
61. Villaran MV, García J, Gomez J, Arango AE, Gonzales M, Chicaiza W, *and al.*, Human parainfluenza virus in patients with influenza-like illness from Central and South America during 2006-2010. Influenza Other Respir Viruses. 2013 Nov 28. doi: 10.1111/irv.12211.

62. Chen Zhang, Zhengde Xie, Roujian Lu, Bin He, Chunyan Liu, *and al.*, Viral Etiology and Clinical Profiles of Children with Severe Acute Respiratory Infections in China. PLOS ONE | www.plosone.org, 2013. Volume 8 | Issue 8 | e72606.
63. Pierangeli, A., *et al.*, Virological and clinical characterization of respiratory infections in children attending an emergency department during the first autumn-winter circulation of pandemic A (H1N1) 2009 influenza virus. Clin Microbiol Infect. 18(4): page 366-73.
64. Hongxia Li, Quande Wei, Aijun and Leyi Wang, Epidemiological analysis of respiratory viral etiology for influenza like illness during 2010 in Zhuhai, China. virology journal 2013,10:143.
65. AK Singh, A Jain, B Jain, KP Singh, T Dangi, M Mogan *and al.*, Viral etiology of acute lower respiratory tract ilnness in hospitalised paediatric patients of a tertiairy hospital: One year prospective study. Indian Journal of Medical Microbiology, 2014. 32(1): page 13-18.
66. Norosoa H R, Vincent Richard, Jonathan Hoffmann, Jean-Marc Reynes,Girard M R and *al.*; Viral eiology of influenza-liken illnesses in Antananarivo,Madagascar, July 2008 to June 2009. PLOS ONE, 2011. 6(3): page e17579.
67. Njouom R, Mba SAS, Noah ND, Gregory V,Collins P,Cappy P,Hay A,Rousset D Circulation of human Influenza virus and emergence of oseltamivir resistant A(H1N1) viruses in Cameroon, central Africa; BMC Infectious diseases 2010. 10:56.
68. Dosseh A, Ndiaye K, Spiegel A, Sagna M, Mathiot C; Epidemiological and virological influenza survey in Dakar, Senegal: 1996-1998, Am J Trop Med Hyg 2000; 62(5):639-643.
69. Elaine N M, Katja H., Anatomie et physiologie humaines. Nouveaux Horizons 2010, Paris: 1293 pp.
70. FLeury, Virologie humaine. Edition Masson 2002, Paris : 245pp.

71. Akoua-Koffi C, Kouakou B, Kadjo H, Elia G, Koffi SP, et al, Results of two-year surveillance of flu in Abidjan, Cote d'Ivoire, Med Trop(Mars) 2007. 67(3):259-262.
72. Laguna-Torres VA, Gomez J, Ocana V, Aguilar P, Saldarriaga T, et al. , Influenza-Like Illness Sentinel Surveillance in Peru. PLoS ONE 4(7): e6118.doi:10.1371/journal.pone.0006118, 2009.
73. OMS, Protocole pour la surveillance sentinelle nationale de la grippe, Division Prévention et Lutte Contre les Maladies Transmissibles, Bureau Régional de l'Afrique de l'Ouest, Brazzaville, 2008.
74. Moura FE, Perdigao AC, Siqueira MM; Seasonality of influenza in the tropics: A distinct pattern in northeastern brazil. Am J Trop Med Hyg 81: 180-183 2009.
75. Richard Njouom, Elsie Laban Yekwa, Pierre Cappy, strid Vabret, Pascal Boisier, and Dominique Rousset, Viral Etiology of Influenza-Like Illnesses in Cameroon, January-December 2009. Viral Etiology of ILI in Cameroon, 2012. JID 2012:206 (Suppl 1) S29.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : les fiches de notification des patients

MINISTERE DE LA SANTE

**DIRECTION DE LA LUTTE
CONTRE LA MALADIE**

**SERVICE DE LA SURVEILLANCE
EPIDEMIOLOGIQUE**

BURKINA FASO

UNITE – PROGRES – JUSTICE

SURVEILLANCE DES SYNDROMES GRIPPAUX

FICHE DE NOTIFICATION DU PATIENT

Région : _____ District : _____

Nom du Site sentinelle : _____

Nom du patient : _____

Age : _____ ans (si < 1 an) : âge en mois : _____ Sexe: M F

Numéro d'identification unique :

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Date de début des symptômes : --- --- / --- --- / 20 -----

Date de prélèvement : --- --- / --- --- / 20-----

Signes cliniques :	Fièvre :	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>	Température : _____ °C
	Toux :	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
	Maux de gorge :	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
	Diarrhée :	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
	Vomissement :	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	

Nom :

Signature :

Date de réception au labo : --- --- / --- --- / 20-

Condition de l'échantillon 1. Adéquat
 2. Non Adéquat

Date de remise des résultats PCR : --- --- / --- --- / 20---

Résultats :	☐ Influenza de Type A	Sous-types A:	☐ H1N1 pandémique	☐ VRS
	☐ Influenza de Type B		☐ H1N1 saisonnier	
	☐ Autres (spécifiez) _____		☐ H2	
	☐ Inconnu		☐ H3	
	☐ Négatif		☐ H5N1	
			☐ Non typable	

Nom :

Signature :

Annexe 2 : Fiche de collecte des relevées météorologiques de la ville de Bobo-Dioulasso de juin 2010 a mai 2012

ANNEE 2010

MOIS	JUIN				JUILLET				AOUT				SEPTEMBRE				OCTOBRE				NOVEMBRE				DECEMBRE					
Semaines	31- 6	7- 13	14- 20	21- 27	28- 4	5- 11	12- 18	19- 25	26- 1	2- 8	9- 15	16- 22	23- 29	30- 5	6- 12	13- 19	20- 26	27- 3	4- 10	11- 17	18- 24	25- 31	1- 7	8- 14	15- 21	22- 28	29- 5	6- 12	13- 19	20- 26
Température minimale moyenne (°C)																														
Température moyenne (°C)																														
Température maximale moyenne (°C)																														
Humidité relative (%)																														
Précipitations (mm)																														
Vitesse moyenne du vent																														
Phénomènes météorologiques ¹																														

1 Incluant : brouillard, grêle, orage, poussière....

ANNEE 2011

MOIS	JANVIER					FEVRIER					MARS					AVRIL					MAI					JUIN				
Semaines	2 7 -2	3 - 9	1 0	1 7-	2 4-	3 1	1 3	14 - 20	21- 27	28 -6	7- 13	14- 20	21- 27	2 8- 3	4- 10	11- 17	18- 24	25- 1	2- 8	9- 15	16- 22	23- 29	30- -5	6- 12	13- 19	20- 26				
Température minimale moyenne (°C)																														
Température moyenne (°C)																														
Température maximale moyenne (°C)																														
Humidité relative (%)																														
Précipitations (mm)																														
Vitesse moyenne du vent																														
Phénomènes météorologiques ²																														

2 Incluant : brouillard, grêle, orage,....

MOIS	JUILLET				AOUT				SEPTEMBRE						OCTOBRE				NOVEMBRE					DECEMBRE				
Semaines	4-10	1	1	25	1-	8	15-	22-	29-	5-	12-	19-	26-	3-	10-	17-	24-	31-	7-	14-	21-	28-	5-	12-	19-	26-	1	
					7	-	21	28	4	11	18	25	2	9	16	23	30	6	13	20	27	4	11	18	25	1		
<i>Température minimale moyenne (°C)</i>																												
<i>Température moyenne (°C)</i>																												
<i>Température maximale moyenne (°C)</i>																												
<i>Humidité relative (%)</i>																												
<i>Précipitations (mm)</i>																												
<i>Vitesse moyenne du vent</i>																												
<i>Phénomènes météorologiques3</i>																												

3 Incluant : brouillard, grêle, orage....

ANNEE 2012

MOIS	JANVIER				FEVRIER				MARS						AVRIL				MAI					JUIN				
Semaines	2-8	9-1	1	23	30	6	13-	20-	27-	5-	11	12-	19-	26-	2-	9-	16-	23-	30-	7-	14-	21-	28-	4-	11-	18-	25-	1
					-5	-	19	26	4	11	18	25	1	8	15	22	29	6	13	20	27	3	10	17	24	1		
<i>Température minimale moyenne (°C)</i>																												
<i>Température moyenne (°C)</i>																												
<i>Température maximale moyenne (°C)</i>																												
<i>Humidité relative (%)</i>																												
<i>Précipitations (mm)</i>																												
<i>Vitesse moyenne du vent</i>																												
<i>Phénomènes météorologiques4</i>																												

4 Incluant : brouillard, grêle, orage....

Annexe 3: Protocoles d'extraction manuelle et automatique

➤ PROTOCOLE D'EXTRACTION D'ARN

❖ LYSE

- 1-Distribuer 560 µl de la solution de lyse (Buffer AVL+carrier RNA) dans les tubes de 1,5ml,
- 2-Ajouter 140 µl de l'échantillon et mélanger au vortex pendant 15 secondes,
- 3-Incuber à la température ambiante pendant 10 mn et centrifuger brièvement.

❖ FIXATION

- 1-Ajouter 560 µl d'éthanol 96°C, mélanger au vortex pendant 15 secondes,
- 2-Centrifuger brièvement, transférer 630 µl du mélange dans la colonne,
- 3-Centrifuger à 8000 rpm pendant 1 mn ou 6 000 g pendant 1 mn,
- 4-Jeter le tube collecteur, mettre la colonne dans un nouveau tube,

❖ LAVAGE

- 1-Ajouter 500 µl de tampon AW1
- 2-Centrifuger à 8 000 rpm pendant 1 mn
- 3-Transférer chaque colonne dans un nouveau tube
- 4-Ajouter 500 µl du tampon AW2
- 5-Centrifuger à 2 0000 g ou 14 000 rpm pendant 3 mn
- 6-Jeter le tube collecteur et utiliser un autre tube pour une centrifugation à vide à 14 000 rpm pendant 1 mn
- 7-Eliminer le filtrat et le tube collecteur, transférer chaque colonne dans un nouveau tube 1,5 ml.

❖ ELUTION

- 1-Ajouter 60µl de la solution d'élution (tampon AVE)
- 2-Incuber à la température ambiante pendant 1 mn
- 3-Centrifuger à 6 000 g pendant 1 mn, jeter la colonne et garder le tube contenant l'ARN, à conserver à -20°C.

➤ PROTOCOLE D'EXTRACTION AVEC QIAcube®

- 1-Brancher l'appareil,
- 2-Etiqueter trois bouteilles de 30 l pour l'éthanol le buffer AW1 et le buffer AW2,
- 3-Transférer les solutions dans les bouteilles correspondantes,
- 4-Ouvrir l'appareil,
- 5-mettre les bouteilles dans l'appareil dans un portoir réservé à cet effet aux positions suivantes : Position 2 :l'éthanol ; position 3 : buffer AW1 ; position 4 : buffer AW2,
- 6-Distribuer 560µl de la solution de lyse (Buffer AVL+ carrier RNA) dans les tubes 1,5 ml déjà numérotés,
- 7-Ajouter 140 µl de l'échantillon et mélanger au vortex pendant 15 secondes,
- 8-incuber à la température ambiante pendant 10 minutes et centrifuger brièvement,
- 9-étiqueter d'autres tubes adapter à L'appareil et y transférer les échantillons, après les 10 minutes d'incubation,
- 10-remplir le portoir de cônes avec des cônes de 1000 µl,
- 11-Transférer la solution d'élution (tampon AVE) dans un tube adapté et le mettre dans l'appareil en position B,
- 12-Reporter les numéros des échantillons sur des tubes 1,5 et sur des colonnes et les mettre dans des rotors adaptateurs aux positions suivantes :
Position 1 : mettre la colonne et insérer le couvercle dans la fente,
Position 2 : mettre le tube 1,5 et insérer le couvercle dans la fente
- 13-Mettre ces rotors adaptateurs préparé dans la centrifugeuse de l'appareil (se référer au manuel pour l'emplacement des échantillons et des rotors adaptateurs),
- 14-Mettre le nombre de shaker rack correspondant au nombre d'échantillons (se référer au manuel pour l'emplacement des échantillons et des rotors adaptateurs),
- 15-Mettre les échantillons dans l'appareil au niveau de l'adaptateur numéroté de 1 à 12, la position des échantillons doit aller avec la position des rotors adaptateurs dans la centrifugeuse (se référer au manuel pour l'emplacement des échantillons et des rotors adaptateurs),
- 16-Enlever les couvercles des bouteilles d'éthanol, d'AW1, AW2 et du tube du tampon AVE,

- 17-fermer l'appareil,
- 18-Appuyer le bouton bleu pour le mettre en marche,
- 19-Attendre qu'il n'y ait plus de bruit, choisir « Virus » sur l'écran qui s'affiche,
- 20- Utiliser la flèche d'en bas pour choisir « Qiamp Virus RNA »,
- 21- Appuyer sur select on a « body fluid »,
- 22- Appuyer sur select on a « Manuel Lysis »,
- 23- Appuyer sur Select et sur Edit pour confirmer le volume du tampon AVE,
- 24-Appuyer sur Select et sur save lorsque s'affiche 100 µl comme volume d'AVE,
- 25-Appuyer sur Select et sur « Back » pour vérifier tous les paramètres,
- 26-Appuyer sur Start et sur « Next » pour chaque paramètre,
- 27-Choisir la touche Start pour démarrer l'extraction,
- 28-Appuyer sur OK lorsque sur l'écran s'affiche « Protocole 13 Complete »,
- 29-Appuyer sur « Next » et ouvrir l'appareil,
- 30-Enlever le rotor adaptateur dans la centrifugeuse, retirer la colonne et refermer le tube contenant l'ARN, 31-jeter le rotor adaptateur avec la colonne
- 32-Refermer les bouteilles de réactifs (Ethanol, AW1, AW2) et le tube d'AVE
- 33-Enlever les tubes qui contenaient les échantillons,
- 34-Vider la poubelle contenant les cônes,
- 35-Nettoyer la centrifugeuse la surface et la poubelle de l'appareil avec de l'eau de javel 10% puis de l'alcool 70%,
- 36-Refermer le QIAcube et appuyer sur le bouton de démarrage pour l'arrêter.

Annexe 4 : Protocole de préparation du master mix

- 1-Mettre tous les réactifs dans un cool rack durant toute la préparation du mix,
- 2- Sortir les primers et sondes du réfrigérateur (4°C), prendre soin de les mélanger au vortex et centrifuger brièvement avant usage,
- 3-Placer le master mix et l'enzyme dans le cold rack,
- 4-Décongeler le 2X mix et le mélanger par inversion,
- 5-Centrifuger brièvement le 2X mix et l'enzyme et les placer dans le cold rack
- 6-Etiqueter un tube de 1.5 ml pour chaque primer et sonde à analyser
- 7-Déterminer le nombre de réactions N
- 8-Prévoir un volume pour le contrôle négatif, positif et l'erreur de pipetage
- 9-Si le nombre d'échantillons (n) incluant les contrôles est de 1 a 14 alors $N=n+1$
- 10-Si le nombre d'échantillons (n) incluant les contrôles est supérieure a 15 alors $N=n+2$

Le calcul pour chaque réactif du mix selon qu'on utilise le kit Invitrogen ou kit Ambion est le suivant :

-KIT INVITROGEN

Réactifs	Volume (μl)
Nuclease free water	$N \times 5.5$
2X reaction Mix	$N \times 12.5$
Forward Primer	$N \times 0.5$
Reverse Primer	$N \times 0.5$
Probe	$N \times 0.5$
Enzyme Mix	$N \times 0.5$
Total	$N \times 20$

Volume de la matrice (template): $5\mu\text{l}$

Volume final de la réaction: $25\mu\text{l}$

- KIT AMBION

Réactifs	Volume (μ l)
Nuclease free water	N x 5.0
2X Reaction Mix	N x 12.5
Forward Primer	N x 0.5
Reverse Primer	N x 0.5
Probe	N x 0.5
Enzyme Mix	N x 1.0
Total	N x 20

Volume de la matrice (template): 5 μ l

Volume final de la réaction: 25 μ l

11-Mélanger le mix après l'ajout de l'enzyme au vortex, centrifuger brièvement et distribuer 20 μ l dans chaque puit selon le schéma de plaque

12-Ajouter 5 μ l d'eau pour les contrôles négatifs et bien fermer les cupules à des barrettes de couvercles plastiques.

13-Prendre soin de couvrir les autres puits avant le transfert de la plaque dans la salle d'extraction

14-Ajouter 5 μ l d'ARN (template) des échantillons dans les cupules selon le schéma de plaque

15-Bien fermer les puits et transférer la plaque dans un cool rack dans la salle d'amplification.

Exemple de schéma de plaque

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	INF A NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7		S9	INFA PC
B	INF B NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	INFB PC
C	RNP NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	RNP PC
D											
E											
F											
G											
H											

Exemple de schéma de plaque pour la détermination des sérotypes 101

Pour les primers venus du Ghana

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	INFA NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	INFA PC
B	Sw INfA NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	SW INFA PC
C	Sw H1 NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	SWH1 PC
D	H1 NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	H1 PC
E	H3 NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	H3 PC
F	RNP NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	RP PC
G												
H												

Pour les primers en stock au labo du CNRG

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	INFA NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	INFA PC
B	PDM NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	PDM PC
C	H1 NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	H1 PC
D	H3 NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	H3 PC
E	RNP NC	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	RNP PC
F												
G												
H												

ANNEXE 5 :

➤ PROTOCOLE DE LA PCR AVEC APPLIED BIOSYSTEMS 7500 FAST

- 1-Double cliquer sur l'icône du 7500 Fast
- 2-Cliquer sur create New Document
- 3- Choisir le mode standard 7500 pour run mode
- 4-S'assurer qu'au niveau de Comments c'est toujours SDS v1.4
- 5-Mettre le nom de la plaque au niveau de plate Name (ex: FLu rRT-PCR 07-07-11 Assana)
- 6-Cliquer sur next
- 7-Sélectionner les détecteurs qu'on veut utiliser et cliquer sur add
- 9-Choisir la référence passive none
- 10-Cliquer sur next
- 11-Sélectionner les puits correspondant selon le schéma de plaque et aller a Use pour cocher le détecteur
- 12-Cliquer sur finish
- 13- Ecrire le numéro de chaque échantillon dans les puits correspondants ainsi que les contrôles positifs et négatifs
- 14-Cliquer sur Instrument et écrire correctement tous les paramètres (température, temps) du protocole d'amplification
- 15-Cliquer sur File et sur Save as
- 16- Enregistrer la plaque dans FLu rRT-PCR
- 17-cliquer sur Start.
- 18-le temps de la réaction s'affiche sur l'écran (ex : 1 :42)

➤ PROTOCOLE DE LA PCR AVEC APPLIED BIOSYSTEMS 7300

Créer et sauvegarder un nouveau document

- 1-Double cliquer sur l'icône 7300 system software
- 2-Cliquer sur create new document
- 3-Aller à Plate name et écrire le nom du document spécifique au kit ou au virus à détecter
- 4-Cliquer sur Next et la fenêtre des détecteurs va s'ouvrir
- 5-Sélectionner les détecteurs s'ils existent déjà et cliquer sur Add

- 6-Sinon aller à New détecteurs, créer nouveau détecteur et cliquer sur ok
- 7-Aller dans la liste, sélectionner le nouveau détecteur et cliquer sur Add
- 8-Cliquer sur finish
- 9-Cliquer sur view et sur well inspector
- 10-Sélectionner quelques puits, cliquer dans la case Use du détecteur pour marquer la lettre U dans les puits sélectionnés
- 11-Numéroter les puits selon le schéma de plaque
- 12-Cliquer sur Instrument
- 13-Ajuster les paramètres du programme (t° , temps et nombre de cycle) comme décrit dans la procédure
- 14-Ajuster au niveau de Sample volume μl selon le volume final de la réaction
- 15-Sauvegarder le document en cliquant sur la disquette ou sur File et save
- 16-Ecrire dans file name le nom du virus et le kit utilisé ex HBV primer design
- 17-Cliquer sur Save as type et choisir SDS Template .SDT
- 18-Cliquer sur save in pour sauvegarder
- 19-Choisir le dossier ABI7300 puis dossier Template
- 20-Cliquer sur save
- 21-Mettre la plaque dans l'appareil et cliquer sur start.

Choisir un document et effectuer une réaction PCR

- 1-Double cliquer sur l'icône du 7300 system software
- 2-Cliquer sur Create new document ou sur File et ensuite sur New
- 3-Cliquer sur la flèche en face de Template et dans le menu se déroulant, choisir le nom du programme déjà enregistré
- 4-Cliquer sur finish, la page du document va s'ouvrir
- 5-Cliquer sur View et sur Well inspector
- 6-Sélectionner les puits selon le schéma de plaque
- 7-Sélectionner le détecteur convenable à la réaction pour les puits utilisés
- 8- Ecrire le numéro de chaque échantillon dans les puits correspondants ainsi que les contrôles positifs et négatifs
- 9-Vérifier que le reporter (FAM) et quencher (None) sont figurés correctement et que la référence passive est Rox

- 10-Fermer la fenêtre Well inspector
- 11-Cliquer sur Instrument et vérifier que tous les paramètres du programme sont corrects
- 12-Cliquer sur File et sur Save as
- 13-Sauvegarder le fichier en écrivant toute information approprié : virus, date de PCR, date et lieu de collection
- 14-S'assurer que sous save as type le fichier est sauvegardé en format sds
- 15-Cliquer sur Save
- 16-Mettre la plaque dans la l'appareil et cliquer sur start.

➤ PROTOCOLE POUR L'ANALYSE, L'INTERPRETATION ET L'EXPORTATION DES RESULTATS

-Analyse et interprétation des résultats

- 1-Cliquer sur results, sélectionner le schéma de plaque
- 2-cliquer sur amplification Plot et analyser
- 3-cliquer avec le bouton droit de la souris sur graph setting pour aller en mode linéaire
- 4-cliquer sur ok et ajuster le threshold
- 5-Vérifier les CT, les component et les courbes d'amplification avant de donner les résultats.

-Exportation des résultats

a-Exportation des CT

- 1-double cliquer sur ABI 7300, cancel, File, open,
- 2-sélectionner Flu rRT-PCR et cliquer sur open
- 3-aller à result, selectionner les résultats des échantillons qu'on veut exporter,
- 4-Cliquer sur amplification plot et sur report,
- 5-Cliquer sur File, export et sur results,
- 6-Ecrire le nom du fichier que l'on veut exporter, cliquer sur Save,
- 7-Pour regarder ce qu'on a exporté on fait file view export results
- 8-Sélectionner les résultats qu'on veut regarder et Cliquer sur open

b-Exportation des courbes

- 1-Double cliquer sur ABI 7300, cancel, file, open,

- 2-Ouvrir le fichier que l'on veut exporter,
- 3-Cliquer sur results et amplification plot,
- 4-Cliquer avec le bouton droit pour aller en mode linéaire,
- 5-Cliquer avec le bouton droit de la souris et sur export to PowerPoint,
- 6-Cliquer sur ok ou aller a tool, graph export to PowerPoint et cliquer sur ok,
- 7-Changer le titre en fonction de ce qu'on veut exporter,
- 8-Cliquer sur file, save as,
- 9-Nommer et cliquer sur Save.

ANNEXE 6 : CERTIFICAT



DEPARTMENT OF HEALTH & HUMAN SERVICES

Public Health Service

Centers for Disease Control
and Prevention

10/18/2012

Zekiba Tarnagda

IRSS

399 Avenue de la Liberte

BP 545

Ouagadougou, Burkina Faso

Dear Mr. Tarnagda,

We appreciate your submitting influenza specimen(s) to CDC for analysis. Data from your laboratory and other collaborating laboratories worldwide contribute significantly towards the influenza vaccine recommendations made each year by WHO.

The results we obtained with your specimen(s) are listed and interpreted below.

CDC ID# Specimen ID# Date Coll. Results

2012700257 COL 540 ORIGINAL 3/23/2012 A/CALIFORNIA/07/2009-LIKE

(H1N1)pdm09

2012700259 COL 595 ORIGINAL 6/10/2012 A/CALIFORNIA/07/2009-LIKE

(H1N1)pdm09

2012700261 CG 026 ORIGINAL 4/3/2012 A/CALIFORNIA/07/2009-LIKE

(H1N1)pdm09

Your specimens were characterized by hemagglutination-inhibition using a panel of post-infection ferret antisera and are related antigenically to A/California/07/2009 (H1N1)pdm09. An A/California/07/2009 (H1N1)pdm09-like virus has been recommended by WHO as the H1 component of the 2012-2013 Northern Hemisphere, and the 2013 Southern Hemisphere vaccine formulations.

Antigenic characterization data is based on hemagglutination inhibition (HI) testing using a panel of reference ferret antisera and results may not correlate with clinical protection against circulating viruses provided by vaccination.

If you have any questions, please contact us.

Sincerely,



Dr. Xiyan Xu Dr. Alexander Klimov

Team Leader	Deputy	Director
Virus Reference Team	WHO Collaborating Center for Surveillance, Epidemiology and Control of Influenza	
Virus Surveillance and Diagnosis Branch Influenza Division, CDC	Influenza Division, CDC	

cc: Dr. Wenqing Zhang

WHO, Geneva

ICONOGRAPHIES

ICONOGRAPHIES



Iconographie 1: Direction régionale de la Météorologie de Bobo



Iconographie 2: Abris météo (contenant thermographe en bas à gauche, thermomètre mini en haut à gauche, thermomètre maxi en haut à droite, et hygrographe en bas à droite).



Iconographie 3: Pluviomètre (à gauche) et Pluviographe (à droite)



Iconographie 4: Baromètre (à gauche) et Barographe(à droite)



Iconographie 5: Moyen de transport des prélèvements.



Iconographie 6: Subdivision en aliquotes des échantillons.



Iconographie 7: Hotte à flux laminaire UNIFLOW KR BASIC®



Iconographie 8: Appareil d'extraction automatique QIAcube ®



Iconographie 9: Extraction de l'ARN viral



Iconographie 10: Appareil PCR en temps réel APPLIED BIOSYSTEMS 7300®



Iconographie 11: Appareil PCR en temps réel APPLIED BIOSYSTEMS 7500 FAST®