



HAL
open science

Fièvre et portage asymptomatique en zone rurale au Sénégal, étiologies et prévalence

Anne-Lise Desjacques

► **To cite this version:**

Anne-Lise Desjacques. Fièvre et portage asymptomatique en zone rurale au Sénégal, étiologies et prévalence. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02170689

HAL Id: dumas-02170689

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02170689>

Submitted on 2 Jul 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Faculté des sciences
médicales et paramédicales
Aix-Marseille Université

**Fièvre et portage asymptomatique en zone rurale au Sénégal,
étiologies et prévalence**

T H È S E A R T I C L E

Présentée et publiquement soutenue devant

**LA FACULTÉ DES SCIENCES MEDICALES ET
PARAMEDICALES**

DE MARSEILLE

Le 12 Avril 2019

Par Madame Anne-Lise DESJACQUES

Née le 26 janvier 1990 à Sainte-Foy-Les-Lyon (69)

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

D.E.S. de MÉDECINE GÉNÉRALE

Membres du Jury de la Thèse :

Monsieur le Professeur FOURNIER Pierre-Edouard

Président

Madame le Professeur FENOLLAR Florence

Directeur

Monsieur le Professeur BROUQUI Philippe

Assesseur

Monsieur le Docteur CASSIR Nadim

Assesseur

Madame le Docteur ZANDOTTI Christine

Assesseur

Remerciements

A mon jury de thèse

A mon président de jury, Monsieur le Professeur Pierre-Edouard Fournier

Vous me faites le très grand honneur d'avoir accepté de présider cette thèse. Je vous remercie de l'intérêt que vous avez bien voulu porter à mon travail. Je vous prie d'accepter le témoignage de ma sincère reconnaissance

A ma directrice de thèse, Madame le Professeur Florence Fenollar

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de diriger ce travail. Je vous remercie pour votre encadrement et votre disponibilité durant la réalisation de cette thèse. Veuillez trouver ici l'expression de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Philippe Brouqui

Vous me faites l'honneur d'apporter votre expérience à la critique de ce travail en acceptant d'être membre de mon jury de thèse. Veuillez croire en l'expression de ma respectueuse considération.

A Monsieur le Docteur Nadim Cassir

Je vous prie de recevoir mes sincères remerciements pour avoir accepté de juger ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Christine Zandotti

Vous me faites l'honneur d'accepter de siéger à ce jury de thèse et de juger ce travail. Je vous remercie pour la gentillesse et la disponibilité dont vous avez fait preuve à mon égard.

Remerciements

Aux membres des équipes de recherche VITROME et MEPHI

J'adresse mes remerciements au Docteur *Oleg Mediannikov* pour sa disponibilité.

Je remercie le Docteur *Céline Gazin* pour son aide précieuse dans la réalisation de mon projet de recherche.

J'accorde une profonde reconnaissance aux techniciennes de biologie moléculaire *Emilie* et *Annick*. Votre partage d'expérience et votre soutien m'ont permis de mener à bien ce travail fastidieux. Sans vous rien n'aurait été possible.

Je remercie mes amis thésards *Younes* et *Hacene* pour leur gentillesse et leurs conseils.

Remerciements

Aux médecins et professionnels de santé qui m'ont aidé à tracer mon chemin

Au Docteur *Michel Bourgoïn* et au Docteur *Christel Riera* auprès de qui j'ai réalisé mes premiers pas en médecine générale.

Merci de m'avoir fait découvrir les multiples facettes de l'exercice libéral. Merci de m'avoir donné foi en cette profession.

Au Docteur *Renaud Laurans*,

Merci de m'avoir épaulée lors de mes choix professionnels. Nos échanges m'ont sincèrement aiguillée.

A *Jacques* et *Jean-Marie*, mes mentors,

Vous avez su m'orienter vers une spécialité passionnante, dans laquelle mon épanouissement sera certain. Merci de m'avoir ouvert la porte de vos cabinets, merci pour votre générosité.

C'est un immense plaisir d'apprendre à vos côtés.

A *Constance*,

Merci pour le partage de ton expérience. Grâce à toi, j'ai été sensibilisée à une médecine de soins, fondée sur l'écoute et le don de soi.

A *Alexandra*,

Merci pour nos échanges passionnants et pour ta présence apaisante. A nos voyages et aventures futures !

A toute l'équipe de HOMA, notamment les super womens *Alexandra*, *Christelle*, *Faustine* et *Orianna*. Merci pour votre énergie, votre humour et votre bonne humeur ; un vrai cocktail anti-dépresseur. Vous côtoyer m'a rendu impatiente de m'installer.

Remerciements

A ma famille

A mes parents, à qui j'accorde tant d'amour et de reconnaissance,

Merci de m'avoir épaulée durant ces longues années d'étude. A vos côtés, j'ai pu mener à bien ce merveilleux projet professionnel. Je vous remercie infiniment pour votre générosité et pour vos multiples attentions (mention spéciale aux tentatives de tarte aux prunes de papa).

A mon frère et mes sœurs,

A Pauline, tu as été un véritable rayon de soleil durant les épreuves.

A mes venues parisiennes où tu m'as ouvert les bras; A nos nombreux défis –couloirs de hors-pistes, premier semi-marathon-. Merci pour ta générosité, merci pour ces merveilleux souvenirs.

A Lorène, tu as été un pilier, une boussole.

A notre colocation beaucoup trop studieuse durant ces années d'externat, malgré le pub situé juste en bas de l'immeuble ; A notre voyage au Mexique et à notre initiation (approximative) au surf. Merci pour ta douceur et ton écoute.

A Loïc, tu as été une source d'énergie,

Huit ans de moins mais quelques doses de folie en plus, toujours prêt à faire l'ouverture des pistes quelle que soit l'heure du coucher, mais surtout toujours là pour rendre service. Merci pour ta générosité, ton dynamisme et pour ton répertoire incalculable de répliques de films et de phrases d'humoristes.

A Grand-maman,

Aussi loin que remonte ce souvenir, je t'offre une éternelle reconnaissance pour m'avoir accueillie chez toi durant ma première année de médecine. Je t'accorde une douce pensée en ce moment particulier ; me voilà médecin, en partie grâce à toi.

Remerciements

A mes amis

A *Priscille et Marine*, mes amies d'enfance, à côté de qui je me suis assise le jour de la rentrée sur les bancs de la faculté. Merci pour ces innombrables moments partagés.

A *Hélène, Marie et Nathalie*, à nos nombreux souvenirs durant ces années d'externat : A nos premiers pas à l'hôpital, à ces multiples soirées médecine et soirées déguisées, à votre capacité à transformer la tisane en rosé, à nos voyages en Amérique du Sud.

A mes amis rencontrés durant l'internat,

A *Chloé*, ma confidente,

A notre premier semestre d'internat à Avignon, à nos soirées à refaire le monde autour d'un verre. Merci pour cette complicité, merci pour ton écoute.

A *Alice*, mon acolyte d'aventures,

A nos séjours d'immersion en pleine nature ; à nos futurs défis. Merci pour ton dynamisme et ta joie de vivre.

A *Célia*, ma source de bonne humeur,

A nos week-ends improvisés, à cette année de dur labeur partagée. Merci pour ton optimisme et pour ta générosité.

A *Clémentine*, ma brillante artiste,

A nos souvenirs de collocation, nos excursions réunionnaises, à nos futures soirées dessin au coucher du soleil. Merci pour ta douceur.

A *Aurélié*, à nos pauses café-thérapie au soleil lors de cette année recherche. Merci pour ton enthousiasme permanent.

A *Charline*, A nos petits moments de répit durant ce semestre éprouvant. Merci pour ta générosité et tes attentions.

A *Mélanie*, merci pour ton sourire, tes conseils avisés et ton énergie débordante.

Remerciements

A *Michaëlle*, ma grande-sœur d'adoption. Merci pour tout ; ton soutien, ton écoute, ta générosité. Je te serais éternellement reconnaissante.

Merci à *Isabelle* et à *Jean-Baptiste* de m'avoir accueilli dans votre maison du bonheur. Merci pour votre générosité. Isabelle, Je me revoie encore sur la terrasse ensoleillée bercée par vos chants d'Opéra.

A mes amis passionnés et aventuriers,

A *Denis*, mon binôme de trail,

A notre passion pour la nature et pour la course. A nos escapades dans les calanques, en haut de la Pierra Menta ou dans les cirques réunionnaises. Merci pour ces moments inoubliables et hors du temps. A tes côtés j'ai appris la patience et la persévérance. Un immense merci pour ton aide dans la réalisation de mon travail de thèse.

A *Laurène*, ma sœur de cœur,

A nos défis relevés ensembles, à nos séances de natation en mer en plein hiver. A notre passion pour la montagne et pour le ski. Tu es toujours là pour relever de nouveaux défis. Merci de me transmettre ta folie et ta joie de vivre.

A *Emma*, mon aventurière,

A notre amour pour la découverte et les voyages, à nos séances de slackline/ médiation à Benodet, à notre premier vol en parapente. Merci pour toutes ces échappées belles à tes cotés.

A toute la team de Crest-Voland : A *Chloé, Edouard, Arthur, Adrien, Amélie, Yvan, Thomas* et tous les autres. A mes pauses-ski avec vous durant mes révisions de première année ou d'internat, aux champs de poudreuse du mont Vores, aux soirées chez Dolo. Merci pour ces week-ends 100% oxygène qui ont ensoleillé ces années d'études.

A tous mes amis de Marseille et d'ailleurs,

A *Pierre* et *Aymeric*, aux sorties ski et aux diners presque parfaits (merci Pierrot),

A *Renaud* et ta bonne humeur, A *Thierry* et *Jean* pour nos apéros du jeudi (ont-ils déjà eu lieu ?), A *Kalixa* et son éternelle motivation.

A *Victor, Johan* et *Miguel* mes amis réunionnais, merci pour votre accueil et votre générosité.

Remerciements

A Marseille et son parc national des calanques,

Aux magnifiques paysages et aux innombrables sentiers qu'il nous offre. A ces moments d'introspection et de méditation en haut de la grande Candelle. A ces heures à contempler et dessiner le paysage. A la nature et au sport, qui m'ont permis de me ressourcer et d'atteindre mes objectifs.

SOMMAIRE

RESUME

| | | |
|--------------|--|-------|
| I. | INTRODUCTION | 1-2 |
| II. | MATERIEL ET METHODES | 3-5 |
| | 1. Population à l'étude | |
| | 2. Inclusion des sujets et recueil des données cliniques | |
| | 3. Recueil des échantillons respiratoires | |
| | 4. Analyse des échantillons | |
| | 4.1. Extraction de l'ADN et de l'ARN des échantillons sanguins, nasaux et pharyngés | |
| | 4.2. Identification de bactéries et de <i>Plasmodium falciparum</i> par biologie moléculaire | |
| | 4.3. Identification de virus respiratoires par biologie moléculaire | |
| | 5. Analyses statistiques | |
| III. | RESULTATS | 6-8 |
| | 1. Echantillons à l'étude et screening en pathogènes respiratoires | |
| | 2. Caractéristiques démographiques et données cliniques | |
| | 3. Prévalence des micro-organismes respiratoires identifiés par PCR en temps réel | |
| | 4. Données démographiques et prévalences en pathogènes respiratoires | |
| | 5. Signes cliniques et présence en pathogènes respiratoires | |
| IV. | DISCUSSION | 9-13 |
| V. | CONCLUSION ET PERPECTIVES | 14 |
| VI. | REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 15-18 |
| VII. | ANNEXES | 19-29 |
| VIII. | SERMENT D'HIPPOCRATE | 30 |

Résumé

Les pathologies infectieuses sont la première cause de mortalité au Sénégal et restent un problème majeur de santé publique en Afrique sub-saharienne. Le paludisme et les infections respiratoires en sont les principaux responsables. Néanmoins en zone rurale, l'identification des étiologies de fièvre reste inconstante, l'accès à des tests diagnostiques étant limité. Récemment, le recours aux outils moléculaires dans les villages ruraux de Dielmo et Ndiop a permis d'identifier des pathogènes émergents potentiellement responsables de fièvre.

En vue d'explorer les causes de fièvres au Sénégal et d'identifier des sujet réservoirs, notre étude a été menée sur une cohorte de 377 sujets fébriles et de 390 témoins asymptomatiques résidants dans les villages ruraux de Dielmo et Ndiop. Des prélèvements naso-pharyngés et sanguins ont été recueillis durant l'année 2016 en vue de rechercher 10 bactéries, 7 virus respiratoires et *Plasmodium falciparum* par biologie moléculaire

Pour 43% des sujets fébriles, des micro-organismes étaient retrouvés dans le sang. La prévalence naso-pharyngée en pathogènes respiratoires était de 93%. *H. influenzae* et *S. pneumoniae* étaient les principaux agents infectieux retrouvés avec des prévalences respectives de 88% et 65%. Leur association était retrouvée chez 51% des patients fébriles, à la fois dans le sang et dans le naso-pharynx. Un portage asymptomatique a été mis en évidence chez 53% des témoins pour les bactéries respiratoires et pour le Rhinovirus et le virus influenzae A.

La prévalence élevée des infections respiratoires souligne leur place majeure dans les causes de fièvre au Sénégal et incite à la promotion de campagnes vaccinales en zone rurale. La mise en évidence de porteurs sains pour l'ensemble des pathogènes respiratoires recherchés pourrait expliquer leur mécanisme de transmission, potentiellement à l'origine d'épidémies.

I- INTRODUCTION

En Afrique sub-saharienne les pathologies infectieuses représentent un problème majeur de santé publique, responsables de 30% de la mortalité générale et de 50% de la mortalité infantile. Les principales causes de fièvre sont le paludisme, les infections respiratoires et les infections digestives (1). Cependant, en zone rurale les étiologies de fièvre ne sont pas toujours identifiées, l'accès à des tests de diagnostic étant limité (2). La fièvre est par défaut attribuée au paludisme sans confirmation microbiologique préalable (3).

Au Sénégal, le recours aux outils moléculaires dans les dispensaires des villages ruraux de Dielmo et Ndiop a permis l'identification de pathogènes émergents responsables de fièvre (4,5). *Borrelia* spp et *Coxiella burnetii* sont à l'origine de plus de 20% des fièvres chaque année (6–8). L'agent responsable de la maladie de Whipple, *Tropheryma whipplei* a été la cause d'une épidémie de fièvre non palustre au Sénégal (9,10). Enfin, *Rickettsia felis* a été fréquemment identifié chez les patients fébriles en zone rurale (11,12) tout comme *Bartonella quintana* (13). En outre, suite à une meilleure identification des causes de fièvre au Sénégal et à l'utilisation de moustiquaires, le nombre de fièvres attribuées au paludisme a diminué (14). Néanmoins, 20% des fièvres en zone rurale restent sans étiologie et justifie des explorations complémentaires (15).

Les infections respiratoires demeurent la première cause de mortalité d'origine infectieuse au Sénégal (16). Les enfants de moins de cinq ans sont les plus touchés par ces pathologies (17,18). Les principaux agents causals identifiés en zone urbaine au Sénégal sont *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et les virus respiratoires (19,20). En zone rurale, les infections d'origine virale restent peu explorées. Les épidémies de grippe font l'objet d'une surveillance épidémiologique grâce aux sites Geosentinelles (21). Néanmoins, dans les villages de Dielmo et Ndiop, pour 50% des sujets présentant un syndrome grippal la recherche des virus *Influenzae* revenait négative (22). Ceci suggère l'implication d'autres virus respiratoires dans les syndromes fébriles et incite leur recherche lors du bilan étiologique des fièvres en zone rurale au Sénégal.

Le microbiote respiratoire varie au cours d'une infection et s'enrichit en micro-organismes potentiellement pathogènes (23). Leur présence est alors corrélée à l'apparition de fièvre et de symptômes respiratoires (24). Cependant, le portage asymptomatique de bactéries pathogènes a déjà été rapportée en Arabie Saoudite (25) et en Afrique, notamment au Kenya et en Gambie (26). Le portage de virus respiratoires a été peu étudié jusqu'alors hormis aux Etats-

Unis où sa prévalence atteignait 7% (27). Aucune étude n'a été menée en Afrique. Pourtant, la présence asymptomatique de pathogènes respiratoire est responsable de leur transmission dans les communautés et en milieu hospitalier (28,29). Elle serait à l'origine de maladies invasives et d'épidémie (30). La mise en évidence de sujets réservoirs permettrait de comprendre leur mécanisme de transmission (31) et de réduire la prévalence des infections causées par ces micro-organismes (32).

Ainsi, devant le contexte épidémiologique et environnemental spécifique à l'Afrique subsaharienne, il serait pertinent d'étudier les populations des zones rurales du Sénégal. Dans cette étude nous chercherons tout d'abord à identifier les étiologies de fièvre au Sénégal, dans les villages de Dielmo et de Ndiop. Par ailleurs, nous étudierons la prévalence nasopharyngée en pathogènes respiratoires chez des sujets fébriles et des témoins asymptomatiques. L'objectif sera de déterminer la prévalence des infections respiratoires -en particulier virales- en zone rurale au Sénégal, d'étudier l'évolution du microbiote au cours de ces infections, et enfin, d'identifier de potentiels sujets réservoirs.

II- MATERIEL ET METHODES

1. Site d'étude et population de l'étude

La cohorte de patients a été constituée en 2016. Elle était composée de 767 patients dont 377 sujets fébriles et 390 sujets asymptomatiques. Ces patients résidaient dans les villages ruraux de Dielmo et de Ndiop, à 280 km au sud-est de Dakar, près de la frontière gambienne au Sénégal (Figure 1).

Les sujets fébriles ont été inclus durant l'ensemble de l'année 2016, comprenant la saison sèche de Novembre à Mai et la saison des pluies de Juin à Octobre. Des patients de tout âge et des deux sexes ont participé à cette étude. Les témoins ont été inclus uniquement durant le mois d'Octobre 2016.

2. Inclusion des sujets et recueil des données cliniques

L'étude a été initiée avec l'approbation du comité Ethique du Sénégal (N°53/ MSAS/ DPRS/ CNER). Les sujets ont signé un consentement au moment de leur inclusion.

Le recrutement des sujets fébriles se faisait lors de consultations volontaires dans les dispensaires de santé de Dielmo et Ndiop. Au cours des consultations, un formulaire renseignant la température et les signes cliniques était rempli pour chaque patient. Les signes cliniques étaient classés par appareil physiologique : oto-rhino-laryngé (ORL), pulmonaire, digestif, urinaire, neurologique, cutané. Les symptômes ORL étaient l'odynophagie, la rhinorrhée, les crachats et un examen clinique de la sphère ORL anormal. La toux, la dyspnée et une auscultation pulmonaire anormale étaient attribués à des signes pulmonaires. Les sujets présentant de la fièvre avec ou sans autre signe clinique étaient inclus dans l'étude.

Les témoins asymptomatiques ont été inclus lors d'intervention des équipes médicales dans les villages de Dielmo et de Ndiop. Ils ne présentaient ni fièvre ni aucun symptôme évocateur d'une maladie évolutive lors de leur inclusion.

3. Recueil des échantillons respiratoires et sanguins

Chez 377 des sujets fébriles, 377 écouvillons nasaux, 377 écouvillons pharyngés et 272 échantillons de sang ont été recueillis. Les 390 témoins asymptomatiques ont fait l'objet de prélèvements nasaux. Tous les écouvillons ont été placés dans des tubes Virocult (Sigma, France) et conservés à -80°C (Figure 2).

4. Analyse des échantillons

4.1. Extraction de l'ADN et de l'ARN

Nous avons extrait l'ADN et l'ARN des échantillons nasaux et pharyngés en utilisant respectivement un kit EZ1 DNA Bacteria (Qiagen, Hilden, Allemagne) et un kit EZ1 RNA Advanced XL virus minikit (Qiagen) en accord avec les recommandations d'utilisation. L'automate d'extraction utilisé était EZ1 Automate XL (Qiagen).

4.2. Identification de bactéries et de *Plasmodium falciparum*

Nous avons procédé à des analyses moléculaires en utilisant des techniques de réaction de polymérisation en chaîne quantitative (qPCR) en temps réel. Les qPCR ont été effectuées en utilisant l'appareil C1000 Touch Thermal-cycler (Bio Rad, Hercules, CA, Etats-Unis). Les échantillons ont été préparés avec le kit Light-Cycler 480 Probes Master (Roche diagnostic, Meylan, France). Des contrôles négatifs et des contrôles positifs ont été placés à chaque run de qPCR.

Le screening par biologie moléculaire comprenait la recherche de 10 bactéries et d'un parasite dans le naso-pharynx: *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii*, *Rickettsia felis* et de *Plasmodium falciparum*. Dans le sang, *Salmonella* spp., *Tropheryma whipplei* et *Borellia* spp ont été recherchés en complément.

Les sondes et amorces utilisées pour l'identification, étaient spécifiques de chaque pathogène recherché. Elles avaient été préalablement validées par les données de la littérature et sont actuellement utilisées en routine à l'IHU Méditerranée Infection (Annexe 1). Pour l'identification des pathogènes, deux qPCR était réalisées, la première ciblant un gène de dépistage (gène 1) et la deuxième qPCR, un gène de confirmation (gène 2). Les résultats des amplifications étaient considérés comme positifs lorsque le Cycle Threshold (CT) était inférieur ou égal à 35 pour l'un des deux gènes et inférieur à 38 pour le second.

4.3. Identification de virus respiratoires

Nous avons procédé à l'identification des virus respiratoires à ARN, par biologie moléculaire, en utilisant des réactions de transcription inverse suivies de PCR quantitative en temps réel (qRT-PCR).

Les qRT-PCR ont été effectuées en utilisant l'appareil C1000 Touch Thermal-cycler (Bio Rad, Hercules, CA, Etats-Unis). Les échantillons étaient préparés avec Light-Cycler Multiplex ARN virus Master kit (Roche diagnostic, Meylan, France). Deux contrôles négatifs étaient placés à chaque cycle de qPCR. Un contrôle interne a été réalisé par RT-PCR du phage MS2.

Le screening par biologie moléculaire comprenait la recherche de 7 virus respiratoires dans le naso-pharynx: virus influenza A, virus influenza B, virus respiratoire syncytial humain (VRS), rhinovirus, adénovirus, entérovirus, métapneumovirus. Aucun virus n'a été recherché dans le sang.

Les sondes et amorces utilisées pour l'identification spécifique de chaque pathogène recherché, avaient été préalablement validées par les données de la littérature et sont actuellement utilisées en routine à l'IHU Méditerranée Infection (Annexe 2).

5. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été conduites en utilisant le logiciel R stat.

Nous avons utilisé le test d'indépendance du khi-2 afin d'étudier l'association entre la prévalence en pathogènes respiratoires et plusieurs paramètres : les caractéristiques démographiques (âge et saison) et le site de prélèvement (nasal, pharyngé ou sanguin). Les résultats étaient interprétés avec un degré de liberté de 1 correspondant à un khi-2 de 3,84. Le seuil de significativité statistique retenu était ainsi une p-value égale à 0,05 avec un intervalle de confiance de 95%.

De même, chez les sujets fébriles, nous avons procédé à des Odds Ratio avec un modèle de régression logistique. Le but était d'étudier la corrélation entre les signes cliniques et la présence naso-pharyngée des pathogènes identifiés.

III- RESULTATS

1. Echantillons de l'étude et screening en pathogènes respiratoires

Chez les 377 sujets fébriles, 377 écouvillons nasaux, 377 écouvillons pharyngés et 272 échantillons de sang ont été recueillis. L'ADN a été extrait sur la totalité des échantillons nasaux, pharyngés et sanguins, permettant la recherche des 10 bactéries respiratoires et de *P. falciparum*. L'ARN a été extrait sur les 377 écouvillons nasaux et pharyngés mais sur aucun échantillon sanguin. Ceci était dû à un volume d'échantillon recueilli insuffisant. Ainsi, les virus respiratoires ont été recherchés uniquement sur les écouvillons nasaux et pharyngés.

Chez les témoins asymptomatiques, 390 écouvillons nasaux ont été recueillis. L'extraction d'ADN pour la recherche en bactéries respiratoires a été réalisée sur la totalité des échantillons. Seulement 126 échantillons ont fait l'objet d'une extraction d'ARN pour l'identification de virus respiratoires.

2. Caractéristiques démographiques et statut clinique des sujets à l'étude

Sur les 377 patients fébriles, la majorité était des enfants (72%) (Tableau 1). 51% des patients résidaient dans le village de Dielmo et 49% dans le village de Ndiop ($p > 0,05$). 50% ($n=187$) des prélèvements ont été réalisés durant la saison sèche, de Novembre à Mai, et 50% ($n=190$) durant la saison des pluies, de Juin à Octobre ($p < 0,05$). La plupart des patients fébriles présentaient des signes respiratoires (55%), dont 40% des signes pulmonaires ($n=151$ sur 377) et 15% des signes ORL ($n=56$). 22% présentaient une fièvre isolée ($n=83$) puis 21% des symptômes digestifs ($n=80$), et enfin 2% ($n=7$) des signes cutanés.

3- Prévalence en micro-organismes respiratoires identifiés par qPCR

- Prévalence en micro-organismes dans le sang des sujets fébriles

Dans le sang des sujets fébriles, la prévalence totale en pathogènes était de 43% (Tableau 2). 31% des sujets présentaient une bactériémie à *H. influenzae* et 26% une bactériémie à *S. pneumoniae*. *S. aureus* est retrouvé dans le sang de 6% des patients et *S. pyogenes* chez 2% d'entre eux. Sept cas de salmonellose (3%) et 12 cas de borrélioses (7%) ont été diagnostiqués sur ces échantillons sanguins. *P. falciparum* a été retrouvé dans le sang de 13 patients. Pour deux d'entre eux, le parasite était associé à *H. influenzae* et pour deux à *Salmonella* spp. L'association d'*H. influenzae* et de *S. pneumoniae* dans le sang était retrouvée chez 20% des sujets fébriles ($n=54$).

- Prévalence naso-pharyngée chez les sujets fébriles

Dans le naso-pharynx des sujets fébriles, la prévalence totale en pathogènes respiratoires était de 93% (Tableau 2). Les principales bactéries identifiées étaient *H. influenzae* (88%) et *S. pneumoniae* (66%). La prévalence pharyngée en bactéries était supérieure à la prévalence nasale (87% vs. 70%, $p < 0,001$). *H. influenzae* était principalement retrouvé dans le pharynx (79% vs. 49%) et *S. aureus* principalement dans le nez des sujets fébriles (13% vs. 5%). *S. pneumoniae* était identifié sans différence significative dans le nez et le pharynx. *P. falciparum* a été retrouvé sur l'écouvillon pharyngé d'un patient fébrile, *C. pneumoniae* sur un écouvillon nasal et *C. burnetii* dans le nez et le pharynx d'un même patient. *R. felis* est identifié dans le naso-pharynx de 7 sujets. Il n'y avait pas de différence significative entre les prévalences nasales et pharyngées en virus respiratoires (38% vs. 37%, $p > 0,05$). Seul Enterovirus était retrouvé majoritairement dans le pharynx (3% vs. 0,8%, $p = 0,05$).

- Comparaison des prévalences nasales entre les sujets fébriles et les contrôles

La prévalence nasale en bactéries respiratoires était significativement supérieure chez les patients fébriles que chez les témoins (71% vs 53% ; $p < 0,001$) (**Tableau 3**). Les prévalences d'*H. influenzae* et de *S. pneumoniae* étaient significativement plus élevées dans ce groupe avec des valeurs respectives de 49% vs. 29% ($p < 0,001$) et de 47% vs. 33% ($p < 0,001$). En revanche, la prévalence nasale de *S. aureus* était supérieure chez les contrôles (20% vs. 12% ; $p < 0,01$). La prévalence totale en virus respiratoires était de 37% chez les sujets fébriles et de 30% chez les témoins, sans différence significative retrouvée ($p > 0,05$). Le rhinovirus était retrouvé avec la même prévalence chez les sujets fébriles et les contrôles (21% vs. 20%). virus influenza A et adénovirus étaient majoritairement identifiés chez les sujets fébriles (11% vs. 6% et 4% vs. 0% ; $p < 0,05$). Le VRS n'a été retrouvé chez aucun patient. Les associations d'*H. influenzae* et d'un autre pathogène (38% vs. 21% ; $p < 0,001$) et de *S. pneumoniae* et d'un pathogène (37 vs 23% ; $p < 0,001$) étaient majoritairement retrouvées chez les sujets fébriles. A l'inverse l'association de *S. aureus* et d'un pathogène (11% vs. 5% ; $p < 0,01$) était retrouvé principalement chez les contrôles. L'association du rhinovirus ou du virus influenza A avec un autre pathogène était significativement supérieure chez les patients fébriles ($p < 0,05$).

4- Corrélation entre bactériémie et présence naso-pharyngé en micro-organismes

Chez les 272 sujets fébriles ayant bénéficiés de prélèvements sanguins et naso-pharyngés, 85% (n=116) présentaient un pathogène dans le sang et 92% (n=251) dans le naso-

pharynx (Tableau 4). La prévalence naso-pharyngée était supérieure à celle du sang pour l'ensemble des pathogènes à l'exception de *P. falciparum*. 97% des patients infectés dans le sang l'étaient aussi dans le naso-pharynx (n=112 sur 116). Chez 87% des sujets présentant une bactériémie à *H. influenzae*, la bactérie était identifiée dans le naso-pharynx (n=83 sur 95). Chez 85% des sujets infectés par *S. pneumoniae* dans le sang, la bactérie était aussi retrouvée dans le naso-pharynx (n=60 sur 70). Enfin, 94% des patients présentant l'association de *H. influenzae* et de *S. pneumoniae* dans le sang l'avaient aussi dans le naso-pharynx.

5- Prévalence en pathogènes respiratoires selon les données démographiques

La prévalence totale naso-pharyngée en micro-organismes respiratoires était identique entre les patients résidant à Dielmo et à Ndiop ($p>0,05$) (Tableau 5). Elle ne variait pas entre la saison sèche et la saison des pluies. Toutefois, *S. aureus*, *S. pyogenes* et le virus influenza A étaient principalement identifiés durant la saison des pluies ($p<0,05$) et le rhinovirus durant la saison sèche (53% vs. 28% ; $p<0,001$). *H. influenzae* était retrouvé à la fois durant la saison sèche et la saison des pluies sans différence significative (86% vs. 89% ; $p>0,05$).

La prévalence totale en pathogènes respiratoires était significativement plus élevée chez les enfants. La tranche d'âge des moins de 5 ans était la plus touchée. La prévalence naso-pharyngée d'*H. influenzae* et de *S. pneumoniae* et d'adénovirus était significativement plus élevée chez les enfants de moins de 5 ans ($p<0,01$). *S. aureus* et le virus influenza A étaient principalement identifiés chez les adultes ($p<0,01$).

6- Association entre tableau clinique et présence de pathogènes respiratoires

La plupart des patients, pour lesquels des pathogènes ont été retrouvés dans le naso-pharynx présentaient soit des signes respiratoires (ORL ou pulmonaire), soit une fièvre isolée (Figure 3). Cependant, par analyse en composante principale, la présence de bactéries respiratoires, dont *H. influenzae* ou *S. pneumoniae*, n'était pas significativement associée à un tableau clinique. L'identification de *S. aureus* était significativement associée à la présence de signes cutanés et celle de *C. burnetti* à une fièvre isolée. Concernant les virus respiratoires, l'identification du virus influenza A chez des sujets fébriles était corrélée à la présence de signes pulmonaires tandis que celle d'entérovirus était associée à des signes ORL. La présence d'adénovirus et du métapneumovirus dans la sphère naso-pharyngée étaient à l'origine d'une fièvre isolée.

IV- DISCUSSION

Cette étude était menée sur une large cohorte de 767 patients sénégalais vivant dans les villages ruraux de Dielmo et de Ndiop. Elle était répartie de façon homogène entre le groupe de patients fébriles (n=377 ; 49%) et celui des sujets asymptomatiques (n=390 ; 51%). Les 377 patients étaient représentatifs des différentes tranches d'âge (enfants <5 ans, 5-18 ans, adultes). La cohorte ainsi constituée était représentative de la population générale. Le recrutement des patients avait été réalisé durant l'ensemble de l'année 2016, couvrant la saison des pluies et la saison sèche, ce qui permettait une analyse exhaustive des causes de fièvre. De plus, la force de cette cohorte résidait dans l'effectif du groupe des témoins asymptomatiques et dans la rigueur clinique lors de leur inclusion. La présence d'un groupe contrôle dans une étude épidémiologique était nécessaire à l'interprétation des résultats et à la limitation des biais de confusion (33). Enfin, les pathogènes recherchés dans le bilan étiologique des fièvres correspondait au contexte épidémiologique du Sénégal (16). Les méthodes de biologie moléculaire utilisées (qPCR) pour leurs identifications étaient des techniques de référence (34,35).

Etiologie et prévalence des bactériémies et du paludisme à Dielmo et Ndiop

Chez 43% des sujets fébriles, des micro-organismes potentiellement responsables de fièvre ont été identifiés dans le sang par analyse moléculaire (Tableau 2). Pour 38%, ces fièvres étaient non-palustres. *H. influenzae* et *S. pneumoniae* étaient les principaux pathogènes retrouvés dans le sang avec des prévalences respectives de 31% et de 26%. La prévalence des bactériémies à *S. pneumoniae* chez des sujets fébriles de notre étude était identique à celle retrouvée préalablement dans les villages voisins (38). Lors de ces précédents travaux menés au Sénégal, *H. influenzae* n'avait pas été recherché dans le sang. Les prévalences retrouvées dans notre étude étaient nettement supérieures à celles retrouvées en Afrique de l'Est (36,37). Cette différence pourrait être expliquée par une couverture vaccinale insuffisante au Sénégal, à fortiori en zone rurale. En 2006, la couverture vaccinale était de 40% sur l'ensemble du pays et était moindre en zone rurale (39). Les vaccins contre *S. pneumoniae* et *H. influenzae* type b ont été introduits tardivement et leur approvisionnement en zone rurale restait inconstant (40). L'association dans le sang d'*H. influenzae* et de *S. pneumoniae* était retrouvée chez 20% des sujets fébriles. Un seul cas a été retrouvé dans la littérature, chez un enfant en Gambie (41). Cependant, *H. influenzae* n'est pas systématiquement recherché dans le sang de patients fébriles en Afrique lors du bilan étiologique de fièvre (17,19). Ceci pourrait expliquer l'absence de

données dans la littérature sur la prévalence de cette association. Malgré tout, *H. influenzae* est une cause de bactériémie fréquente en particulier chez l'enfant (42) et les co-infections sont des causes d'échec de traitement et peuvent altérer le pronostic (43). Des études complémentaires, afin de mieux connaître la prévalence des bactériémies à *H. influenzae* et de son association à *S. pneumoniae*, sur l'ensemble du Sénégal et plus largement en Afrique pourraient être envisagées. *P. falciparum* a été retrouvé chez seulement 5% des patients fébriles dans les villages de Dielmo et Ndiop. Cette faible prévalence reflète une meilleure prise en charge des fièvres au Sénégal associée à une diminution du Paludisme(14). Elle était comparable à celle observée en Casamance au Sénégal. Pour deux patients, *P. falciparum* était associé dans le sang à *H. influenzae* et deux autres à *Salmonella* spp. Des associations similaires ont été rapportées en Tanzanie (36) et au Mozambique (44).

Dans notre étude, la recherche de micro-organismes dans le sang des témoins n'a pas été réalisée. Pourtant, le portage sanguin asymptomatique de *P. falciparum* a déjà été recensé à Dielmo et Ndiop entre 2013 et 2015 avec une prévalence atteignant 12% (45). Concernant les bactéries recherchées dans cette étude, de précédents travaux menés au Gabon chez des sujets fébriles et des cas asymptomatiques au Gabon avait permis d'affirmer la corrélation entre une bactériémie à *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes* ou de *Salmonella* spp. et l'apparition de fièvre (46). Aucun portage sanguin asymptomatique n'avait été retrouvé pour ces bactéries. Ces données illustrent leur pathogénicité et leur implication dans les causes de fièvre au sein de notre cohorte sénégalaise. Enfin, la présence sanguine de certains pathogènes émergents tels que *R. felis* et *C. burnetii* a déjà été identifiée dans le sang de sujets sains en Afrique (47). Dans notre étude, *C. burnetii* a été retrouvée dans le nez de témoins asymptomatiques, soulignant l'existence de sujets réservoirs pour ce micro-organisme.

Evolution du microbiote respiratoire au cours des infections et prévalence des réservoirs en zone rurale au Sénégal

Dans notre étude, le microbiote respiratoire des sujets fébriles était enrichi en micro-organismes par comparaison aux sujets sains. *H. influenzae* et *S. pneumoniae* étaient les principales bactéries retrouvées, témoignant de leur implication dans les causes de fièvre au Sénégal (43,48). A l'inverse *S. aureus* était retrouvé majoritairement chez les sujets asymptomatiques laissant présager de sa participation à la constitution de la flore commensale. Le portage nasal de *S. aureus* a déjà été documenté chez des sujets sains aux USA (20) et en Europe (49) Néanmoins, aucune étude n'avait été menée jusqu'alors au Sénégal. Durant les infections respiratoires, la flore naso-pharyngée s'enrichirait en bactéries pathogènes (50) au

détriment de celles de la flore commensale (23). (23). Dans notre étude, l'augmentation de la prévalence de *H. influenzae* et de *S. pneumoniae* associée à la diminution de celle de *S. aureus*, chez les sujets fébriles, illustrerait ce mécanisme de pathogénicité

Le portage asymptomatique de virus respiratoire n'avait jamais été documenté en Afrique. Pourtant dans notre étude, la prévalence en virus respiratoires chez les témoins était identique à celle des sujets fébriles. Le portage asymptomatique du Rhinovirus atteignait 24% et 6% pour le virus influenzae A. Aux USA leurs prévalences chez des sujets sains étaient de 50% pour le Rhinovirus et de 15% pour le virus influenzae A (31,51). Ainsi, le microbiote respiratoire de certains sujets immunocompétent ne serait pas altéré par le portage du virus influenza A, expliquant l'absence de symptômes en sa présence (52). En revanche, l'association de virus et de bactéries respiratoires altérerait la flore résidante et serait à l'origine de l'apparition de symptômes respiratoires. La présence de *S. pneumoniae* potentialiserait l'infection par le virus influenza A et inversement (53). De même, les infections respiratoires à *S. aureus* seraient favorisées par la présence de virus (54). Dans notre étude, les associations bactéries-bactéries ou bactéries-virus étaient significativement associées à la présence de fièvre chez les sujets fébriles, ce qui concorde avec les données de la littérature.

Dans cette étude, 53% des sujets asymptomatiques étaient porteurs de micro-organismes potentiellement pathogènes. Ils constitueraient alors des réservoirs pouvant être à l'origine d'épidémie au Sénégal en zone rurale. Le peu d'études menées jusqu'alors incite à la réalisation de travaux complémentaires chez des sujets asymptomatiques, afin d'identifier la nature des micro-organismes pouvant faire l'objet d'un portage sain. Ceci permettrait d'identifier leur mécanisme de transmission afin de prévenir la survenue d'infections respiratoires (30–32).

Etiologie des infections respiratoires virales et bactériennes à Dielmo et Ndiop

Chez les sujets fébriles, la prévalence naso-pharyngée en pathogènes respiratoires était de 93% (Tableau 2). Elle était plus élevée que celle observée en Europe (21) ou en Arabie Saoudite (22), notamment pour *H. influenzae* et *S. pneumoniae*. L'impact de la vaccination sur la réduction du portage naso-pharyngé en pathogènes respiratoires a déjà été démontré (55,56). La faible couverture vaccinale en Afrique, et à fortiori au Sénégal, pourrait expliquer la plus grande prévalence retrouvée dans notre étude, en particulier pour ces deux pathogènes (57). Les sujets les plus touchés par les infections à *H. influenzae* et *S. pneumoniae* étaient les enfants de moins de cinq ans (Tableau 5). La prévalence de ces infections était supérieure à celle observée à Dakar dans cette même tranche d'âge (18). Une prévalence en pathogènes respiratoire plus élevée dans les villages ruraux de Dielmo et de Ndiop qu'en milieu urbain pourrait être expliqué

par un accès aux soins plus limité en zone rurale responsable d'une moindre couverture vaccinale (26,27).

La prévalence totale en virus respiratoires chez les sujets fébriles était de 57% (Tableau 2). Elle correspondait à celle retrouvée au Sénégal entre 2013 et 2015 (20). Les cas de grippe étaient identifiés principalement chez les adultes et durant la saison des pluies, ce qui était concordait avec les précédentes études menées au Sénégal (21). Dans notre étude menée en 2016, seulement 5 cas d'infection par le virus influenza B ont été retrouvés (1%) contre 48 pour le virus influenza A (13%). Entre 2013 et 2015, la prévalence des cas de grippe atteignait près de 30% sur l'ensemble du Sénégal. Le virus à l'origine de ces épidémies variait selon les années : c'était le cas du virus influenza A en 2014 puis du virus influenza B en 2015 (20,21) . L'identification de porteurs sains permettrait de mieux présager le pathogène pouvant être impliqué dans les épidémies de grippe à venir. Dans notre étude en 2016, aucun témoin n'était porteur du virus influenza B. En revanche, 7 d'entre eux étaient porteurs du virus influenza A ce qui concorderait avec l'épidémie de grippe A observé chez les sujets fébriles. L'adénovirus était détecté toute l'année et majoritairement chez les enfants de moins de cinq ans (Tableau 5) comme retrouvé en 2015 (58). Enfin, le rhinovirus était identifié avec une prévalence atteignant 41% (Tableau 2) En 2016 elle était de 33% sur l'ensemble du Sénégal (59) mais plus élevée en zone rurale, dans les villages voisins de Dielmo et de Ndiop (20).

Enfin, la prévalence en pathogènes respiratoires variait selon le site de prélèvement (Tableau 2). *H. influenzae* était retrouvé majoritairement dans le pharynx (79% vs 49% ; $p < 0,001$) tandis que *S. aureus* était identifié principalement dans le nez des sujets fébriles (13% vs. 5% ; $p < 0,001$). *S. pneumoniae*, comme les virus respiratoires, étaient retrouvés sur les deux sites de prélèvement sans différence significative. La localisation préférentielle de certains pathogènes justifie la réalisation de prélèvements nasaux et pharyngés pour l'identification de l'ensemble des agents responsables d'infections respiratoires au Sénégal en zone rurale (34).

Démarche diagnostique des étiologies des fièvres au Sénégal en zone rurale

La concordance des résultats sanguins et respiratoires obtenus par qPCR illustre la sensibilité et la spécificité de ces méthodes diagnostiques dans l'identification d'agents infectieux (60) et notamment de pathogènes respiratoires (35). Le recours aux tests de diagnostic rapide par biologie moléculaire aiderait à la prise en charge étiologique et thérapeutique des fièvres en zone rurale. L'implantation de laboratoires au sein des villages de Dielmo et de Ndiop illustrent cette avancée scientifique (4). Dans cette étude, l'identification de virus respiratoires, autres que les virus influenza A et B chez des sujets fébriles à Dielmo et

Ndiop souligne la diversité des étiologies de fièvre au Sénégal. Des travaux complémentaires dans les villages voisins permettraient de déterminer la prévalence des infections virales respiratoires en zone rurale, méconnue jusqu'alors.

L'association d'*H. influenzae* et *S. pneumoniae* était fréquemment retrouvée dans le sang et le naso-pharynx des sujets fébriles de notre cohorte. Cette co-infection peu recherchée en Afrique illustre la complexité des fièvres au Sénégal. Ceci justifierait d'adopter une démarche diagnostique standardisée et approfondie lors du bilan étiologique des fièvres. La constitution d'un répertoire exhaustif de pathogènes à rechercher permettrait d'optimiser la prise en charge des patients au Sénégal.

V- CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans notre étude, la prévalence élevée en micro-organismes respiratoires retrouvée chez les sujets fébriles reflète leur place majeure dans les étiologies de fièvre au Sénégal en zone rurale. Leur prévalence plus importante que dans d'autres pays d'Afrique souligne l'impact de la vaccination sur la réduction des infections respiratoires et sur la transmission des pathogènes impliqués. La promotion de campagnes vaccinales au Sénégal pourrait ainsi être renforcée, en particulier pour les enfants de moins de cinq ans, principales cibles de ces infections. La mise en évidence de porteurs sains en micro-organismes respiratoires incite à la réalisation de travaux complémentaires chez des sujets asymptomatiques afin d'identifier la prévalence et la nature de ces réservoirs. Enfin l'identification naso-pharyngée de pathogènes émergents tel que *Rickettsia felis* et *Coxiella burnetii* laisse présager de la diversité des causes de fièvre à explorer au Sénégal, et justifierait une recherche exhaustive de micro-organismes lors du bilan étiologique des fièvres.

VI- REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. l'Afrique O mondiale de la SB régional de. Atlas des statistiques sanitaires de la Région africaine 2016. Organisation mondiale de la Santé. Bureau régional de l'Afrique; 2016
2. Petti CA and al. Laboratory medicine in Africa: a barrier to effective health care. *Clin Infect Dis*. 1 févr 2006;42(3):377-82.
3. Audu R and al.. Malaria rapid diagnostic test evaluation at private retail pharmacies in Kumasi, Ghana. *J Res Pharm Pract*. 2016;5(3):175-80.
4. Sokhna C, Gaye O, Doumbo O. Developing Research in Infectious and Tropical Diseases in Africa: The Paradigm of Senegal. *Clinical Infectious Diseases*. 15 août 2017;65(suppl_1):S64-9.
5. Sokhna C, Mediannikov O, Fenollar F, et al. Point-of-Care Laboratory of Pathogen Diagnosis in Rural Senegal. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013 .
6. Parola P, Diatta G, Socolovschi C et al. Tick-Borne Relapsing Fever Borreliosis, Rural Senegal. *Emerg Infect Dis*. mai 2011;17(5):883-5.
7. Mediannikov O, Socolovschi C, Bassene H, et al. *Borrelia crocidurae* Infection in Acutely Febrile Patients, Senegal. *Emerg Infect Dis*. août 2014;20(8):1335-8.
8. Mediannikov O, Fenollar F, Socolovschi C, et al. *Coxiella burnetii* in Humans and Ticks in Rural Senegal. *PLoS Negl Trop Dis* 2010.
9. Fenollar F, Mediannikov O, Socolovschi C, et al. *Tropheryma whippelii* bacteremia during fever in rural West Africa. *Clin Infect Dis*. 1 sept 2010;51(5):515-21.
10. Bassene H, Mediannikov O, Socolovschi C, et al, *Tropheryma whippelii* as a Cause of Epidemic Fever, Senegal, 2010–2012. *Emerg Infect Dis*. juill 2016;22(7):1229-334.
11. Socolovschi C, Mediannikov O, Sokhna C, et al. *Rickettsia felis*–associated Uneruptive Fever, Senegal. *Emerg Infect Dis*. juill 2010;16(7):1140-2.
12. Mediannikov O, Fenollar F, Bassene H, et al. Description of “yaaf”, the vesicular fever caused by acute *Rickettsia felis* infection in Senegal. *Journal of Infection*. juin 2013;66(6):536-40.
13. Diatta G, Mediannikov O, Sokhna C, et al. Prevalence of *Bartonella quintana* in Patients with Fever and Head Lice from Rural Areas of Sine-Saloum, Senegal. *Am J Trop Med Hyg*. 6 août 2014;91(2):291-3.
14. Brasseur P, Raccurt C, Badiane M, Cisse M, Trape J-F, Sokhna C. [Changes in malaria prevalence and management of fevers from 2000 to 2012 in Casamance, Senegal]. *Bull Soc Pathol Exot*. févr 2015;108(1):10-3.
15. Tine RC, Ndiaye LA, Niang MN, et al. Upper respiratory infections in a rural area with reduced malaria transmission in Senegal: a pathogens community study. *BMC Infect Dis*. 10 sept 2018;18(1):459.
16. WHO, Statut sanitaire, Sénégal, 2012. <https://www.who.int/countries/sen/fr/>
17. Muro F, Reyburn R, Reyburn H. Acute respiratory infection and bacteraemia as causes of non-malarial febrile illness in African children: a narrative review. *Pneumonia*. 29 mai 2015;6:6-17.
18. Assane D, Makhtar C, Abdoulaye D, et al. Viral and Bacterial Etiologies of Acute Respiratory Infections Among Children Under 5 Years in Senegal. *Microbiol Insights*. 2018
19. Reddy EA, Shaw AV, Crump JA. Community-acquired bloodstream infections in Africa: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. juin 2010;10(6):417-32.

20. Dia N, Diene Sarr F, Thiam D, et al. Influenza-Like Illnesses in Senegal: Not Only Focus on Influenza Viruses. *PLoS One* 2014 /
21. Niang MN, Barry MA, Talla C, et al. Estimation of the burden of flu-associated influenza-like illness visits on total clinic visits through the sentinel influenza monitoring system in Senegal during the 2013-2015 influenza seasons. *Epidemiol Infect.* déc 2018;146(16):2049-55.
22. Diene Sarr F, Niang M, Thiam D, et al. Acute Febrile Illness and Influenza Disease Burden in a Rural Cohort Dedicated to Malaria in Senegal, 2012–2013. *PLoS One* 2015
23. Xu Q, Wischmeyer J, Gonzalez E, Pichichero ME. Nasopharyngeal polymicrobial colonization during health, viral upper respiratory infection and upper respiratory bacterial infection. *J Infect.* juill 2017;75(1):26-34.
24. Ly TDA, Edouard S, Badiaga S, et al. Epidemiology of respiratory pathogen carriage in the homeless population within two shelters in Marseille, France, 2015-2017: cross sectional 1-day surveys. *Clin Microbiol Infect.* 2018;
25. Memish ZA, Assiri A, Turkestani A, et al. Mass gathering and globalization of respiratory pathogens during the 2013 Hajj. *Clinical Microbiology and Infection.* 2015;21(6):571.e1-571.e8.
26. Adegbola RA, DeAntonio R, Hill PC, et al. Carriage of *Streptococcus pneumoniae* and Other Respiratory Bacterial Pathogens in Low and Lower-Middle Income Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE.* 1 août 2014;9(8):e103293.
27. Prat C, Lacoma A. Bacteria in the respiratory tract—how to treat? Or do not treat? *International Journal of Infectious Diseases.* oct 2016;51:113-22.
28. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infectious Diseases.* 1 déc 2005;5(12):751-62.
29. Bogaert D, Belkum A van, Sluijter M, et al. Colonisation by *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* in healthy children. *The Lancet.* 5 juin 2004;363(9424):1871-2.
30. Bogaert D, Groot R de, Hermans PWM. *Streptococcus pneumoniae* colonisation: the key to pneumococcal disease. *The Lancet Infectious Diseases.* 1 mars 2004;4(3):144-54.
31. Birger R, Morita H, Comito D, et al. Asymptomatic Shedding of Respiratory Virus among an Ambulatory Population across Seasons. *mSphere* 2018
32. Kenner J, O'Connor T, Piantanida N, et al. Rates of carriage of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in an outpatient population. *Infect Control Hosp Epidemiol.* juin 2003;24(6):439-44.
33. Dubourg G, Fenollar F. Epidemiologic studies need asymptomatic controls. *Clinical Microbiology and Infection.* août 2015;21(8):e51-2.
34. Coughtrie AL, Whittaker RN, Begum N, et al. Evaluation of swabbing methods for estimating the prevalence of bacterial carriage in the upper respiratory tract: a cross sectional study. *BMJ Open.* oct 2014;4(10):e005341.
35. Satzke C, Turner P, Virolainen-Julkunen A, et al. Standard method for detecting upper respiratory carriage of *Streptococcus pneumoniae*: Updated recommendations from the World Health Organization Pneumococcal Carriage Working Group. *Vaccine.* déc 2013;32(1):165-79.
36. Lundgren IS, Heltshe SL, Smith AL, Chibwana J, Fried MW, Duffy PE. Bacteremia and Malaria in Tanzanian Children Hospitalized for Acute Febrile Illness. *J Trop Pediatr.* avr 2015;61(2):81-5.

37. Berkley JA, Lowe BS, Mwangi I, et al. Bacteremia among children admitted to a rural hospital in Kenya. *N Engl J Med*. 6 janv 2005;352(1):39-47.
38. Fenollar F, Mediannikov O, Sokhna CS, et al. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Streptococcus pyogenes* DNA are common in febrile patients in Senegal. *International Journal of Infectious Diseases*. 1 avr 2014;21:337.
39. Chippaux JP, Marra A, Diallo A, Simondon F, Etard JF. [Analysis of evolution of vaccine coverage in Niakhar, a rural area of Senegal, between 1984 and 2003]. *Bull Soc Pathol Exot*. déc 2006;99(5):391-9.
40. Mbengue MAS, Mboup A, Ly ID, et al. Vaccination coverage and immunization timeliness among children aged 12-23 months in Senegal: a Kaplan-Meier and Cox regression analysis approach. *Pan Afr Med J* 2017;
41. Soothill G, Darboe S, Bah G, et al. Invasive bacterial infections in Gambians with sickle cell anemia in an era of widespread pneumococcal and hemophilus influenzae type b vaccination. *Medicine* 2016
42. Pai S, Enoch DA, Aliyu SH. Bacteremia in children: epidemiology, clinical diagnosis and antibiotic treatment. *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 2 sept 2015;13(9):1073-88.
43. Voiriot G, Visseaux B, Cohen J, et al. Viral-bacterial coinfection affects the presentation and alters the prognosis of severe community-acquired pneumonia. *Crit Care* 2016
44. Sigauque B, Roca A, Mandomando I, Morais L, Quintó L, Sacarlal J, et al. Community-Acquired Bacteremia Among Children Admitted to a Rural Hospital in Mozambique. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1 févr 2009;28(2):108-13.
45. Niang M, Thiam LG, Sane R, et al. Substantial asymptomatic submicroscopic *Plasmodium* carriage during dry season in low transmission areas in Senegal: Implications for malaria control and elimination. *PLoS One* 2017
46. Mourembou G, Fenollar F, Socolovschi C, et al. Molecular Detection of Fastidious and Common Bacteria as well as *Plasmodium* spp. in Febrile and Afebrile Children in Franceville, Gabon. *Am J Trop Med Hyg*. 6 mai 2015;92(5):926-32.
47. Mourembou G, Nzondo SM, Ndjoyi-Mbiguino A, et al. Co-circulation of *Plasmodium* and Bacterial DNAs in Blood of Febrile and Afebrile Children from Urban and Rural Areas in Gabon. *Am J Trop Med Hyg*. 6 juill 2016;95(1):123-32.
48. Edouard S, Million M, Bachar D, et al. The nasopharyngeal microbiota in patients with viral respiratory tract infections is enriched in bacterial pathogens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1 sept 2018;37(9):1725-33.
49. Esposito S, Terranova L, Zampiero A, et al. Oropharyngeal and nasal *Staphylococcus aureus* carriage by healthy children. *BMC Infect Dis* 2014
50. Edouard S, Million M, Bachar D, et al. The nasopharyngeal microbiota in patients with viral respiratory tract infections is enriched in bacterial pathogens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1 sept 2018;37(9):1725-33.
51. Furuya-Kanamori L, Cox M, Milinovich GJ, Magalhaes RJS, Mackay IM, Yakob L. Heterogeneous and Dynamic Prevalence of Asymptomatic Influenza Virus Infections. *Emerging Infectious Diseases*. 2016;22(6):1052-6.
52. Ramos-Sevillano E, Wade WG, Mann A, et al. The Effect of Influenza Virus on the Human Oropharyngeal Microbiome. *Clin Infect Dis*. 2018
53. Short KR, Habets MN, Hermans PW, Diavatopoulos DA. Interactions between *Streptococcus pneumoniae* and influenza virus: a mutually beneficial relationship? *Future Microbiology*. 1 mai 2012;7(5):609-24.

54. Morgene MF, Botelho-Nevers E, Grattard F, et al. Staphylococcus aureus colonization and non-influenza respiratory viruses: Interactions and synergism mechanisms. *Virulence*. 31 déc 2018;9(1):1354-63.
55. Hammitt LL, Crane RJ, Karani A, et al. Effect of Haemophilus influenzae type b vaccination without a booster dose on invasive H influenzae type b disease, nasopharyngeal carriage, and population immunity in Kilifi, Kenya: a 15-year regional surveillance study. *The Lancet Global Health*. 1 mars 2016;4(3):e185-94.
56. Mrkvan T, Pelton SI, Ruiz-Guiñazú J, Palmu AA, Borys D. Effectiveness and impact of the 10-valent pneumococcal conjugate vaccine, PHiD-CV: review of clinical trials and post-marketing experience. *Expert Rev Vaccines*. 2018;17(9):797-818.
57. Adegbola RA, DeAntonio R, Hill PC, et al. Carriage of Streptococcus pneumoniae and other respiratory bacterial pathogens in low and lower-middle income countries: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. 2014;9(8):e103293.
58. Niang MN, Diop NS, Fall A, et al. Respiratory viruses in patients with influenza-like illness in Senegal: Focus on human respiratory adenoviruses. *PLoS One* 2017
59. Fall A, Dia N, Kébé O, Sarr FD, et al. Enteroviruses and Rhinoviruses: Molecular Epidemiology of the Most Influenza-Like Illness Associated Viruses in Senegal. *Am J Trop Med Hyg*. 3 août 2016;95(2):339-47.
60. Fenollar F, Raoult D. Molecular diagnosis of bloodstream infections caused by non-cultivable bacteria. *Int J Antimicrob Agents*. nov 2007;30 Suppl 1:S7-15.

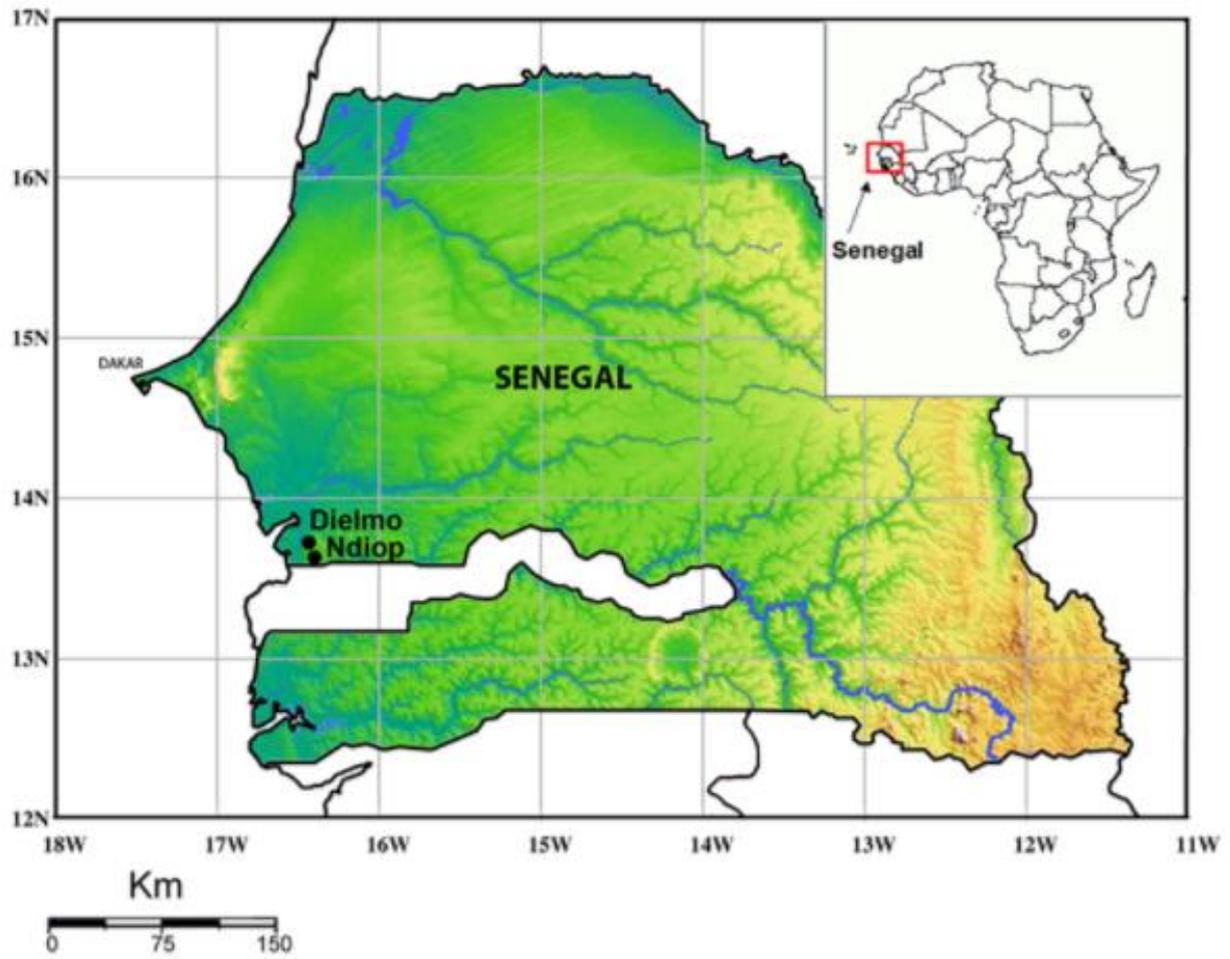


Figure 1. Localisation géographique des sites d'étude de Dielmo et Ndiop au Sénégal, en Afrique.

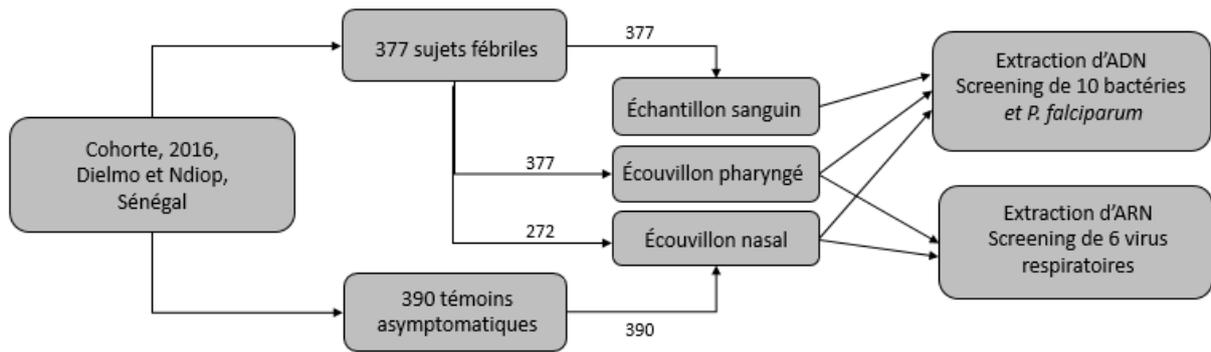


Figure 2. Population à l'étude et échantillons analysés.

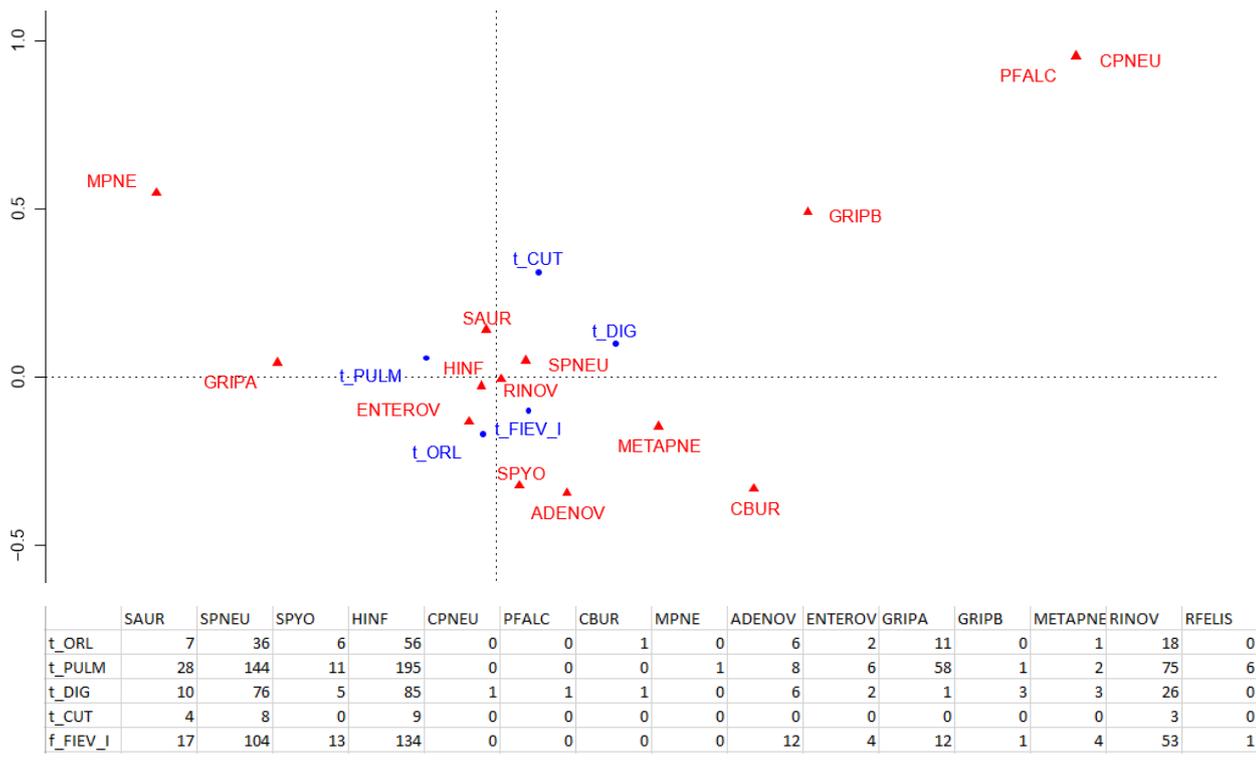


Figure 3. Association entre la présence de pathogènes respiratoires et le tableau clinique.

SAUR : *Staphylococcus aureus* ; SPNEU : *Streptococcus pneumoniae* ; HINF : *Haemophilus influenzae* ; CBUR : *Coxiella burnetii* ; MPNE : *Mycoplasma pneumoniae* ; ADENOV : *Adenovirus* ; GRIPA : *Virus influenzae A* ; GRIPB : *Virus influenzae B* ; METAPNE : *Metapneumovirus* ; RINOV : *Rhinovirus* ; RFELIS : *Rickettsia felis*
t_CUT : tableau cutané ; t_DIG : digestif ; t_PULM : pulmonaire ; t_ORL : Oto-rhino-laryngé ; t_FIEV-I: fièvre isolée

| Patients (n=377) | âge | | | village | | Saison | | tableau clinique | | | | |
|---------------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------------|-------------|------------|------------|----------|
| | <5 | 5-18 | >18 | Ndiop | Dielmo | Sèche | Pluies | ORL | PULM | DIG | Fièvre I | CUT |
| n (%) | 108 (29) | 193 (51) | 76 (20) | 193 (51) | 184 (49) | 187 (50) | 190 (50) | 56 (15) | 151 (40) | 80 (21) | 83 (22) | 7 (2) |

Tableau 1. Caractéristiques démographiques et cliniques de 377 patients fébriles

ORL : oto-rhino-laryngé ; PULM : pulmonaire ; Fièvre I : Fièvre isolée ; CUT : cutané

| | Ecouvillon sanguin | | Ecouvillon nasal ou pharyngé | | Ecouvillon nasal | | Ecouvillon pharyngé | | p-value |
|--|--------------------|-------|------------------------------|-------|------------------|-------|---------------------|-------|---------|
| | n | (%) | n | (%) | n | (%) | n | (%) | |
| Total échantillon d'ADN | 272 | (100) | 377 | (100) | 377 | (100) | 377 | (100) | |
| Total Bactérie | 116 | (43) | 351 | (93) | 266 | (71) | 326 | (87) | p<0,001 |
| <i>S. aureus</i> | 16 | (6) | 62 | (16) | 47* | (13) | 19 | (5) | p<0,001 |
| <i>S. pneumoniae</i> | 70 | (26) | 246 | (65) | 176 | (47) | 198 | (53) | |
| <i>S. pyogenes</i> | 5 | (2) | 29 | (8) | 15 | (4) | 21 | (6) | |
| <i>H. influenzae</i> | 85 | (31) | 330 | (88) | 185 | (49) | 299* | (79) | |
| <i>N. meningitidis</i> | 0 | (0) | 0 | | 0 | (0) | 0 | (0) | |
| <i>C. burnetii</i> | 0 | (0) | 1 | (0,3) | 1 | (0,3) | 1 | (0,3) | |
| <i>R. felis</i> | - | - | 8 | (2) | 6 | (2) | 2 | (0,5) | |
| <i>C. pneumoniae</i> | - | - | 1 | (0,3) | 1 | (0,3) | 0 | (0) | |
| <i>L. pneumophila</i> | - | - | 0 | (0) | 0 | (0) | 0 | (0) | |
| <i>M. pneumoniae</i> | - | - | 1 | (0,3) | 0 | (0) | 1 | (0,3) | |
| <i>P. falciparum</i> | 13 | (5) | 1 | (0,3) | 0 | (0) | 1 | (0,3) | |
| <i>Salmonella spp.</i> | 7 | (3) | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>Borrelia spp.</i> | 12 | (4) | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>T. whipplei</i> | 0 | (0) | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>H. influenzae</i> + <i>S. pneumoniae</i> | 54 | (20) | 192 | (51) | 132 | (35) | 178* | (47) | p<0,001 |
| <i>H. influenzae</i> + <i>S. aureus</i> | 6 | (2) | 27 | (7) | 11 | (3) | 13 | (4) | |
| <i>H. influenzae</i> + <i>S. aureus</i> + <i>S. pneumoniae</i> | 3 | (1) | 20 | (5) | 7 | (2) | 6 | (2) | |
| <i>P. falciparum</i> + <i>H. influenzae</i> + | 2 | (0,4) | 1 | (0,3) | 0 | (0) | 1 | (0,3) | |
| <i>P. falciparum</i> + <i>Salmonella spp.</i> | 2 | (0,4) | - | - | - | - | - | - | |
| Total échantillon d'ARN | - | - | 377 | (100) | 377 | (100) | 377 | (100) | |
| Total virus | - | - | 216 | (57) | 139 | (37) | 143 | (38) | |
| Rhinovirus | - | - | 153 | (41) | 80 | (21) | 98 | (26) | p<0,05 |
| Adenovirus | - | - | 31 | (8) | 16 | (4) | 17 | (5) | |
| Virus influenzae A | - | - | 49 | (13) | 43 | (11) | 39 | (10) | |
| Virus influenzae B | - | - | 5 | (1) | 3 | (0,8) | 2 | (0,5) | |
| Enterovirus | - | - | 13 | (3) | 3* | (0,8) | 11 | (3) | |
| Metapneumovirus | - | - | 9 | (2) | 7 | (2) | 3 | (0,8) | |
| Virus respiratoire syncytial | - | - | 0 | (0) | 0 | (0) | 0 | (0) | |
| Total pathogènes | 116 | (43) | 363 | (97) | 266 | (71) | 345* | (92) | p<0,001 |

Tableau 2. Prévalence en micro-organismes identifiés par qPCR chez 377 patients fébriles

| | Sujets fébriles | | Témoin | | p-value |
|---|-----------------|--------------|-----------------|--------------|---------|
| | Ecouvillon n | nasal (%) | Ecouvillon n | nasal (%) | |
| Total échantillon ADN | 377 | (100) | 390 | (100) | |
| Total bactéries | 266 | (71) | 208 | (53) | p<0.001 |
| <i>S. aureus</i> | 47 | (12) | 79* | (20) | p<0.01 |
| <i>S. pneumoniae</i> | 176* | (47) | 129 | (33) | p<0.001 |
| <i>S. pyogenes</i> | 15 | (4) | 17 | (4) | |
| <i>H. influenzae</i> | 185* | (49) | 114 | (29) | p<0.01 |
| <i>N. meningitidis</i> | 0 | (0) | 0 | (0) | |
| <i>P. falciparum</i> | 0 | (0) | 0 | (0) | |
| <i>C. burnetii</i> | 1 | (0) | 2 | (0,5) | |
| <i>C. pneumoniae</i> | 1 | (0) | 2 | (0,5) | |
| <i>L. pneumophila</i> | 0 | (0) | 1 | (0,3) | |
| <i>M. pneumoniae</i> | 0 | (0) | 0 | (0) | |
| Total associations bactérie | 145 | (38) | 129 | (33) | p<0,1 |
| <i>H. influenzae</i> + <i>S. pneumoniae</i> | 132* | (35) | 76 | (20) | p<0,001 |
| <i>H. influenzae</i> + 1 bactérie | 141* | (38) | 82 | (21) | p<0,001 |
| <i>S. pneumoniae</i> + 1 bactérie | 137* | (37) | 91 | (23) | p<0,001 |
| <i>S. aureus</i> + 1 bactérie | 18 | (5) | 43* | (11) | p<0,01 |
| Total échantillon ARN | 377 | (100) | 126 | (100) | |
| Total virus | 139 | (37) | 38 | (30) | p<0,1 |
| Rhinovirus | 80 | (21) | 30 | (24) | |
| Adenovirus | 16* | (4) | 0 | (0) | p<0,05 |
| Virus influenzae A | 43* | (11) | 7 | (6) | p<0,05 |
| Virus influenzae B | 3 | (0,8) | 0 | (0) | |
| Enterovirus | 3 | (0,8) | 1 | (0,8) | |
| Metapneumovirus | 7 | (2) | 0 | (0) | |
| Virus respiratoire syncytial | 0 | (0) | 0 | (0) | |
| Total association | 97 | | 35 | | p<0,1 |
| Rhinovirus + grippe A | 6* | (6) | 0 | (0) | p<0,05 |
| Rhinovirus + 1 bactérie | 60* | (16) | 15 | (12) | p<0,05 |
| Grippe A + 1 bactérie | 38* | (10) | 5 | (3) | p<0,05 |

Tableau 3. Prévalence micro-organismes identifiés par qPCR chez 377 patients fébriles et 390 témoins

| | Echantillon naso-pharyngé | | Echantillon sanguin | | p value | Total sang et naso-pharynx | |
|--|---------------------------|-------|---------------------|-------|---------|----------------------------|------|
| | n | (%) | n | (%) | | n | (%) |
| Total échantillons | 272 | (100) | 272 | (100) | | 272 | |
| Total infectés | 251* | (92) | 116 | (43) | p<0,001 | 112 | (97) |
| <i>H. influenzae</i> | 236* | (87) | 95 | (35) | p<0,001 | 83 | (87) |
| <i>S. pneumoniae</i> | 183 * | (67) | 70 | (26) | p<0,001 | 60 | (85) |
| <i>S. aureus</i> | 39 * | (14) | 16 | (6) | p<0,01 | 5 | |
| <i>S. pyogenes</i> | 15* | (5) | 4 | (2) | p<0,05 | 0 | |
| <i>N. meningitidis</i> | 0 | (0) | 0 | (0) | | | |
| <i>P. falciparum</i> | 1 | (0,4) | 13* | (5) | p<0,001 | 1 | |
| <i>H. influenzae + S. pneumoniae</i> | 148* | (55) | 54 | (20) | p<0,001 | 51 | (94) |
| <i>H.influenzae + S.aureus</i> | 17 * | (7) | 6 | (2) | p<0,05 | 1 | |
| <i>H. influenzae + S. aureus + S. pneumoniae</i> | 16* | (6) | 3 | (1) | p<0,05 | 2 | |
| <i>P. falciparum + H. influenzae</i> | 1 | (0,4) | 2 | (0,7) | p<0,05 | 1 | |
| <i>P. falciparum + Salmonella spp.</i> | - | | 2 | (0,7) | | | |

Tableau 4. Corrélation des prévalences en micro-organismes dans le sang et naso-pharynx de 272 patients fébriles

| Données démographiques | village | | | Saison | | | Age (ans) | | | |
|--------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|---------|
| | Ndiop | Dielmo | pvalue | Sèche | Pluie | p value | <5 | 5-18 | >18 | p value |
| Total échantillon n (%) | 193 (100) | 184 (100) | p>0,05 | 187 (100) | 190 (100) | p>0,05 | 108 (100) | 193(100) | 76 (100) | |
| Total pathogènes n (%) | 187 (97) | 179 (97) | | 181 (97) | 184 (97) | | 108 (100) | 189 (98) | 68 (91) | |
| <i>S. aureus</i> | 30 (15) | 30 (16) | - | 21 (11) | 39* (21) | p<0,05 | 13 (12) | 29 (15) | 18* (24) | p<0,001 |
| <i>S. pneumoniae</i> | 129 (66) | 116 (63) | - | 127 (45) | 118 (62) | | 95* (88) | 119 (62) | 31 (42) | p<0,01 |
| <i>S. pyogenes</i> | 14 (7) | 15 (8) | - | 5 (3) | 24* (13) | p<0,001 | 4 (4) | 25* (14) | 0 | p<0,001 |
| <i>H. influenzae</i> | 164 (85) | 162 (88) | - | 158 (86) | 168 (89) | | 102* (94) | 169 (88) | 54 (71) | p<0,01 |
| <i>N. meningitidis</i> | 0 | 0 | - | 0 | 0 | | 0 | 0 | 0 | |
| <i>C. pneumoniae</i> | 0 | 1 (0,5) | - | 1 (0,5) | 1 (0,5) | | 0 | 1 (0,5) | 0 | |
| <i>P. falciparum</i> | 0 | 1 (0,5) | - | 1 (0,5) | 0 | | | | | |
| <i>C. burnetii</i> | 2 (1) | 0 | - | 1 (0,5) | 1 (0,5) | | 1 (1) | 1 (0,5) | 0 | |
| <i>L. pneumophila</i> | 0 | 0 | - | 0 | 0 | | 0 | 0 | 0 | |
| <i>M. pneumoniae</i> | 0 | 1 (0,5) | - | 1 (0,5) | 0 | | 0 | 0 | 0 | |
| <i>R. felis</i> | 2 (1) | 5 (3) | - | 1 (0,5) | 6 (3) | | 2 (2) | 4 (2) | 1 (1) | |
| Adenovirus | 13 (7) | 18 (10) | - | 14 (8) | 16 (8) | | 13* (12) | 14 (7) | 4 (0,5) | p<0,001 |
| Metapneumovirus | 7 (4) | 6 (3) | - | 9 | 4 (2) | | 4 (4) | 5 (3) | 0 | |
| Virus influenzae A | 30 (16) | 19 (10) | - | 0 | 49* (26) | p<0,001 | 13 (7) | 27 (10) | 9* (12) | p<0,01 |
| Virus influenzae B | 4 (2) | 1 (0,5) | - | 4 (2) | 1 (0,5) | | 1 (1) | 3 (2) | 1 (1) | |
| Enterovirus | 5 (3) | 4 (2) | - | 4 (2) | 5 (3) | | 3 (3) | 10 (5) | 0 | |
| Rhinovirus | 70 (36) | 80 (43) | - | 98* (53) | 52 (28) | p<0,001 | 42 (39) | 78 (40) | 29 (38) | |
| VRS | 0 | 0 | - | 0 | 0 | | 0 | 0 | 0 | |

Tableau 5. Association entre données démographiques et prévalence naso-pharyngé (%) en micro-organismes identifiés qPCR chez 377 patients fébrils.

| ORGANISMES CIBLES | GENES CIBLES | NOM | SEQUENCES (5'-3') | REFERENCE |
|---------------------------------|------------------------------|-----------------|--------------------------------------|--|
| <i>Haemophilus influenzae</i> | <i>ompP1</i> 1°intention | Hinf_ompP1_F | CCTTACGTGCRGGTATKGCT | Hotomi M, PLOS ONE, Aug.2013, Vol.8, Issue 8, e71774 |
| | | Hinf_ompP1_R | GTGAACTTTTTTGCCTTTTAAGTAAGC | |
| | | Hinf_ompP1_P | 6FAM - AGTGCTGCAATTCCAGATACCGATCGC | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 1°intention | Saur_NucA_F2 | GTTGTGGATGGTGATACATTTATTGC | Mediannikov et al, Am J Trop Med hyg, 2014, 91(5): 1015-1019. |
| | | Saur_NucA_R2 | CCAAATGGTTGTACAGGCGTATTC | |
| | | Saur_NucA_P2 | 6FAM- AGGCTTATAGGGTTGATACGCCAGAAACGG | |
| | 2°intention | Saur_Amido_F | CCTCGACAGGTAACGCATCA | Mediannikov et al, Am J Trop Med hyg, 2014, 91(5): 1015-1019. |
| | | Saur_Amido_R | AAACTCCTATCGGCCGCAAT | |
| Saur_Amido_P | 6FAM- TGCAATGGTAGGTCCTGTGCCA | | | |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1°intention | lytA-CDC_F | ACGCAATCTAGCAGATGAAGCA | Carvalho & al, JCM, Aug. 2007, p. 2460–2466 Vol. 45, No. 8 |
| | | lytA-CDC_R | TCGTGCGTTTTAATTCCAGCT | |
| | | lytA-CDC_P | 6FAM- TGCCGAAAACGCTTGATACAGGGAG | |
| | 2°intention | Pneumo_plyN_F | GCGATAGCTTTCTCCAAGTGG | Mediannikov et al, Am J Trop Med hyg, 2014, 91(5): 1015-1019. |
| | | Pneumo_plyN_R | TTAGCCAACAAATCGTTTACCG | |
| | | Pneumo_plyN_P | 6FAM- CCCAGCAATTCAAGTGTCGCCGA | |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 1°intention | Spyo_hypp_F | ACAGGAACTAATACTGATTGGAAAGG | Mediannikov et al, Am J Trop Med hyg, 2014, 91(5): 1015-1019. |
| | | Spyo_hypp_R | TGTAAGTGAAAATAGCAGCTCTAGCA | |
| | | Spyo_hypp_P | 6FAM- AAAATGTTGTGTTTTAGGCACCTGGCGG | |
| | 2° intention | Spyo_mipB_F | CCATACGGTTATAGTAAGGAGCCAAA | Mediannikov et al, Am J Trop Med hyg, 2014, 91(5): 1015-1019. |
| | | Spyo_mipB_R | GGCTATCACATCACAGCAACC | |
| | | Spyo_mipB_P | 6FAM- TCAGCGCCAGCTTCAATGGC | |
| <i>Salmonella spp.</i> | 1° intention | Salmo_invA_F | TCTGTTTACCGGCATACCA | Fenollar et al, Am. J. Trop. Med. Hyg., 92(5), 2015, pp. 926–932 |
| | | Salmo_invA_R | CACCGTGGTCCAGTTTATCG | |
| | | Salmo_invA_P | 6FAM- CCAGAGAAAATCGGGCCGCG | |
| | 2°intention | Salmo_sipC_F | GTCAGGCGTCGTAAAAGCTG | Fenollaret al, Am. J. Trop. Med. Hyg., 92(5), 2015, pp. 926–932 |
| | | Salmo_sipC_R | ACGTCGACTGGTGGTACTGG | |
| | | Salmo_sipC_P | 6FAM- CTCCAGGCGCGAACAGCTGG | |
| <i>Tropheryma whipplei</i> | 1ère intention | T_whi2_F | TGAGGATGTATCTGTGTATGGGACA | Fenollar et al, Clin Infect Dis, 2010, 51(5):515-21 |
| | | T_whi2_R | TCCTGTTACAAGCAGTACAAAACAAA | |
| | | T_whi2_P | 6FAM- GAGAGATGGGGTGCAGGACAGGG | |
| | 2°intention | T_whi3_F | TTGTGTATTTGGTATTAGATGAAACAG | Fenollar et al, Clin Infect Dis, 2010, 51(5):515-21 |
| | | T_whi3_R | CCCTACAATATGAAACAGCCTTTG | |
| | | T_whi3_P | 6FAM- GGGATAGAGCAGGAGGTGTCTGTCTGG | |
| <i>Coxiella burnetii</i> | 1°intention | CB_IS1111_0706F | CAAGAAAACGTATCGCTGTGGC | Willems H et al. Zentralbl Veterinarmed B 1994; 41:580–7. |
| | | CB_IS1111_0706R | CACAGAGCCACCGTATGAATC | |
| | | CB_IS1111_0706P | 6FAM- CCGAGTTCGAAACAATGAGGGCTG | |
| | 2°intention | CB_IS30A_3F | CGCTGACCTACAGAAATATGTCC | Mediannikov et al, Plos Negl Trop Dis, 2010, 4:e654 |
| | | CB_IS30A_3R | GGGGTAAGTAAATAATACCTTCTGG | |
| | | CB_IS30A_3P | 6FAM- CATGAAGCGATTATCAATACGTGTATGC | |

Annexe 1. Séquence d'ADN des sondes et des amorces utilisées des bactéries et de *Plasmodium falciparum*.

| ORGANISMES CIBLES | GENES CIBLES | NOM | SEQUENCES (5'-3') | REFERENCE |
|----------------------------------|-----------------------------|----------------|-----------------------------------|---|
| <i>Legionella pneumophila</i> | <i>gyrB</i> 1° intention | Lpneumo_gyrB_F | TGGAACCGGTTTGCATCATA | Winchell, JCM, Jan2013, p348-351 |
| | | Lpneumo_gyrB_R | CGACAGGAATACCACGRCCA | |
| | | Lpneumo_gyrB_P | 6FAM-TGAATCCCTGGCAGGTTATTGCAAGG | |
| | <i>mip</i> 2° intention | Lp_mip_F | AGATGTTAATCCGGAAGCAATGG | Winchell, JCM, Jan2013, p348-351 |
| | | Lp_mip_R | CATTTGCTGTTCCGGTTAAAGCC | |
| | | Lp_mip_P | 6FAM-AAGGCATGCAAGACGCTATGAGTGGC | |
| <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> | <i>omp2</i> | Cpneu_omp2_F | GATCGTCGCTAGTGC GGA | Wagels, J Clin Microbiol, 1994, 32(11):2820-3 |
| | | Cpneu_omp2_R | GTCTAACCTTCTTCGCTGTCA | |
| | | Cpneu_omp2_P | 6FAM- ACAAAGCCAGCACCTGTTCTT -MGB | |
| <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | <i>MPP1</i> | MPP1_F | CCGTTTTACTCGTGCCGCG | Raoult D, July 2011, PLoS ONE 6(7): e22403 |
| | | MPP1_R | GGGAGCGCTAACCCCG | |
| | | MPP1_P | 6FAM-AGCGTGGTGTACTATGAGCAGTTGCAGC | |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | <i>CtrA</i> | Meningo_Ctra_F | GCTGCGGTAGGTGGTTCAA | Corless C.E, JCM, April 2001, p1553-1558, Vol.39, No.4 |
| | | Meningo_Ctra_R | TTGTCGCGGATTTGCAACTA | |
| | | Meningo_Ctra_P | 6FAM- CATTGCCACGTGTCAGCTGCACAT | |
| | <i>crgA</i> | Meningo_CrgA_F | GAAATACCGCAAGGCGTGTT | Cohen-Bacrie S, July 2011, PLoS ONE, Vol.6, Issue 7, e22403 |
| | | Meningo_CrgA_R | GCAGCACCATCGGCATCG | |
| | | Meningo_CrgA_P | 6FAM- CGCGTGGATTCCGC -MGB | |
| <i>Plasmodium falciparum</i> | <i>PfEMP1</i> | Pfalci_P1_F | GGACATAATAAAAGGTTTTTCTTCCA | Fenollar et al, Am J Trop Med Hyg. 6 mai 2015;92(5):926-32 |
| | | Pfalci_P1_R | CAAATAACACAAAATACAGAACCAAA | |
| | | Pfalci_P1_P | 6FAM-CATTATGATGTGACGTGGTAGGATGGG | |
| | <i>18S</i> | Plasmo_18S_2_F | AGGCAACAACAGGTCTGTGA | Fenollar et al, Am J Trop Med Hyg. 6 mai 2015;92(5):926-32 |
| | | Plasmo_18S_2_R | GCAATAATCTATCCCCATCACG | |
| | | Plasmo_18S_2_P | 6FAM- GAACTAGGCTGCACGCGTGCTACA | |

Suite annexe 1. Séquence d'ADN des sondes et des amorces utilisées pour l'identification des bactéries et de *Plasmodium falciparum*.

| ORGANISMES CIBLES | GENE | NOM | SEQUENCES (5'-3') | REFERENCE |
|------------------------------|------|-------------|---|--|
| Adenovirus | AQ | AQ1 | GCC ACG GTG GGG TTT CTA AAC TT | Heim A et al, J Med Virol. 2003;70(2):228-39. |
| | | AQ2 | GCC CCA GTG GTC TTA CAT GCA CAT C | |
| | | AP | FAM- TGC ACC AGA CCC GGG CTC AGG TAC TCC GA-TAMRA | |
| Enterovirus | PICO | HevFwd356 | GCTGCGYTGCGGCC | Tapperel et al, J Clin Microbiol. 2009;47(6):1742-9 |
| | | EV PICO R | GAAACACGGACACCCAAAGTAGT | |
| | | EV PICO Pro | FAM-CTC CGG CCC CTG AAT GYG GCT AA TAMRA | |
| Metapneumonvirus | NLN | NLN-R | CCTATTTCTGCAGCATATTTGTAATCAG | Maertzdorf J et al, J Clin Microbiol. 2004;42(3):981-6 |
| | | NLN-F | CATATAAGCATGCTATATTAAGAGTCTC | |
| | | NLN-PRO | FAM-TGY AAT GAT GAG GGT GTC ACT GCG GTT G-TAMRA | |
| Rhinovirus | HRV | HRV S1 | WGC CVG CGT GGC KGC C | Yu X, Methods Mol Biol, 2015, 1221:11-24 |
| | | HRV S2 | GAA ACA CGG ACA CCC AAA GTA GT | |
| | | HRV R | GAA ACA CGG ACA CCC AAA GTA GT | |
| | | HRV Pro | FAM CTC CGG CCC CTG AAT GYG GCT AA TAMRA | |
| Virus respiratoire syncitial | CDC | VRS-F | GGC AAA TAT GGA AAC ATA CGT GAA | Fry AM et al, PLoS One, 2010; 5(11):e15098 |
| | | VRS-R | TCT TTT TCT AGG ACA TTG TAY TGA ACA G | |
| | | VRS-P | FAM CTG TGT ATG TGG AGC CTT CGT GAA GCT BHQ | |
| Virus influenzae A | GA 2 | GA 2 R | AGG GCA TTY TGG ACA AAK CGT CTA | Kim C et al, PLoS One. 2011;6(6):e21610 |
| | | GA 2 S | GAC CRA TCC TGT CAC CTC TGA C | |
| | | GA 2 Pro | FAM-TGC AGT CCT CGC TCA CTG GGC ACG | |
| Virus Influenzae B | RH2 | INF B R | CCA GCA ATA GCT CCG AAG AAA | Van Elden et al, J Clin Microbiol.2001 Jan;39(1):196-200 |
| | | INF B S | AAA TAC GGT GGA TTA AAY AAA AGC AA | |
| | | INF B Pro | VIC CAC CCA TAT TGG GCA ATT TCC TAT GGC TAMRA | |
| Phage MS2 | | MS2 R | GTT CCC TAC AAC GAG CCT AAA TTC | Ninove et al, PLoS One. 2011 Feb 9;6(2):e16142. |
| | | MS2 S | CTC TGA GAG CGG CTC TAT TGG T | |
| | | MS2 Pro | FAM TCA GAC ACG CGG TCC GCT ATA ACG A-BHQ | |

Annexe 2. Séquence d'ARN des sondes et des amorces utilisées pour l'identification des virus respiratoires.

SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque.

