



**HAL**  
open science

## SARS-CoV-2 et co-infections respiratoires virales

Céline Boschi

► **To cite this version:**

Céline Boschi. SARS-CoV-2 et co-infections respiratoires virales. Sciences pharmaceutiques. 2021. dumas-03522829

**HAL Id: dumas-03522829**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03522829>**

Submitted on 12 Jan 2022

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## THÈSE D'EXERCICE

Phase d'Approfondissement du D.E.S. de Biologie Médicale

Soutenu le jeudi 30 septembre 2021

Par M<sup>elle</sup> BOSCHI CELINE  
Née le 24 Juin 1992  
À Marseille

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 12 avril 2017  
portant organisation du troisième cycle des études de Médecine et de  
Pharmacie

THÈSE ARTICLE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN  
PHARMACIE

----oOo----

**TITRE : SARS-COV-2 ET CO-INFECTIIONS RESPIRATOIRES VIRALES**

----oOo----

**JURY :**

Président : Professeur ROLAIN Jean-Marc

Membres :

Professeur COLSON Philippe  
Professeur FOURNIER Pierre-Édouard  
Docteur AHERFI Sarah

Directeur de thèse

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05  
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

## **ADMINISTRATION :**

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI, M. Guillaume HACHE
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Henri PORTUGAL, M. Philippe CHARPIOT
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Florence GAUREL
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

## **DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE**

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

### **PROFESSEURS**

BIOPHYSIQUE

M. Vincent PEYROT  
M. Hervé KOVACIC

GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE

M. Christophe DUBOIS

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Philippe PICCERELLE

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI  
Mme Odile RIMET-GASPARINI  
Mme Pascale BARBIER  
M. François DEVRED  
Mme Manon CARRE  
M. Gilles BREUZARD  
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA  
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,  
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE  
M. Emmanuel CAUTURE  
Mme Véronique ANDRIEU  
Mme Marie-Pierre SAVELLI

BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES  
PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE

M. Jérémy MAGALON  
Mme Carole SIANI

## ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

**DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE**  
Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

## PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE  
Mme Laurence CAMOIN-JAU  
Mme Florence SABATIER-MALATERRE  
Mme Nathalie BARDIN

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN  
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET  
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

## MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	M. Thierry AUGIER M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER M. Romaric LACROIX Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Michèle LAGET Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

## ATER

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	Mme Anne-Claire DUCHEZ
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE	Mme Alexandra WALTON

## A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Mélanie VELIER
----------------------------	--------------------

## DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

## PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOGNOSIE	Mme Evelyne OLLIVIER

**MAITRES DE CONFERENCES**

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Pierre REBOUILLON
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	M. Riad ELIAS Mme Valérie MAHIOU-LEDDET Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN

**MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Anne-Marie PENET-LOREC
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE	M. Marc LAMBERT
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA

**A.H.U.**

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Mathieu CERINO
--	-------------------

**ATER**

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Duje BURIC
---	---------------

**DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE**

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

**PROFESSEURS**

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE Mme Frédérique GRIMALDI M. Joseph CICCOLINI

**MAITRES DE CONFERENCES**

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

**A.H.U.**

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE PHARMACIE CLINIQUE	Mme Anaïs MOYON M. Florian CORREARD
---	--

**ATER.**

TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Anne RODALLEC
----------------------------------	-------------------

## CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 23 janvier 2020



## Remerciements

*Aux membres du jury,*

**Monsieur le Professeur Jean Marc Rolain**

Pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury et pour votre aide lorsque j'ai découvert le monde de la recherche en Master 2.

**Monsieur le Professeur Philippe Colson,**

Merci de m'avoir accordée votre confiance pendant toutes ces années d'internat et de m'avoir tant appris sur la virologie clinique mais aussi de m'avoir fait découvrir la recherche à travers mon Master 2 et ma Thèse de Science. Merci d'être toujours disponible lorsque j'en ai besoin et bienveillant à mon égard.

**Monsieur le Professeur Pierre-Édouard Fournier**

Merci pour votre bienveillance et votre gentillesse durant mon internat. Je suis honorée que vous ayez accepté de faire partie de ce jury de thèse.

**Madame le Docteur Sarah Aherfi**

Merci pour tout ce que tu m'as appris pendant toutes ces années et d'avoir su me guider dans mes moments de doutes. Merci de m'avoir toujours encouragée et aidée lorsque j'en avais besoin. Tu es un modèle pour moi et vive tous nos rires en viro !

**A ma famille** : mes parents, mon frère et mes grands-parents pour m'avoir soutenue durant toutes ces longues années !

*Mam's*, merci de m'avoir fait cocher la case « pharmacie » en première année et de m'avoir dit de prendre cette filière après le coup de fil fatidique... je suis fière de partager le même diplôme que toi et merci de m'avoir supportée pendant toutes ces années.

*Daddy*, encore désolée d'avoir raté dentaire mais tu vois c'était pour la bonne cause. Merci d'être toi et de d'être un pilier sur qui je peux compter sans faille

A mon frère *Clément*, mamoune, pinsoute... autant de surnoms que d'amour ! je te dois un voyage à New-York à cause de l'internant, t'inquiète j'ai pas oublié ! Merci d'avoir raté une carrière en NBA pour me permettre de réviser au lieu de faire des shoots sur la terrasse, je t'aime très fort même si tu passes ta vie à m'embêter

A mes quatre grands-parents chéris *Mamie Zaza, Papy Mickey, Mamie Jeanine et Papy Yvan*... merci pour tous ces moments passés ensemble que je chérirai au fond de mon cœur pour le restant de ma vie. Je vous aime !

A mon *Parrain*, ta petite pomme a bien grandi et je suis tellement contente qu'on se soit retrouvés.

A mes cousins *Florent et Thomas* et à tous nos bons moments passés ensemble chez papy et mamie à faire des bêtises, manger au macdo, aller au cinéma et bien d'autres encore...

A *tatie Josette*, toujours là pour nous, tel le roc que tu as toujours été.

A ma *Doudouch* des Brayes, trop jolie pour être une Douchka.

A la *famille Espo* (Babs et Choa) et *Brigitte*, pour leur soutien depuis que je suis née, à toutes nos vacances ! A *Martine* la meilleure maîtresse de primaire que j'ai eu, A *Sandrine et JC* pour m'avoir supportée toutes les semaines en cours de maths ! Aux *Carles*, les autres pharmaciens de l'impasse qui m'ont soutenue et avec qui j'adore aller au Bestouan le dimanche soir.

A ma *Marraine, Mélo, Nicole et les 4 petites puces* : à notre gang de marraines entremêlées que j'adore !

**A mes amis d'enfance**, *Audric, Andréa, Julia, Kévin, Théo*... à toutes nos bêtises en vacances au club-med ou à la montagne... j'espère qu'il y en aura bien d'autres !

A mon *Florian*, mon Darling avec qui j'ai partagé tant de choses pendant notre adolescence ! j'exige qu'on se voie plus à partir de maintenant !

**A mes mamies Nova (on taira l'ancien nom du groupe)**

Ma *Flaviminou*, qui aurait cru qu'une chaise en cours d'anglais serait le point de départ de notre amitié... et quelle amitié qui dure maintenant depuis presque 20 ans (ça nous rajeuni pas). J'ai promis une spéciale dédicace à Kévin alors la voilà (#BRITNEY). Merci d'avoir été un soutien sans faille et de me faire goûter tes bons gâteaux !

A mon *Estelle*, ma petite BB avec qui je pourrais parler des heures à raconter tout et n'importe quoi ! A toutes nos escapades londoniennes et à nos soirées qui j'espère seront encore nombreuses.

A ma *Marlou doudou* avec ses petits doigts de fée et nos déhanchés sur les chorégraphies lors des boums du collège ! les calédoniens ont bien de la chance de t'avoir récupérée mais en attendant, tu me manques...

A ma *Camillou*, toujours le sourire et la bonne humeur pour remonter le moral... quand on dit que toute brune a besoin de sa blonde c'est bien vrai

Merci les filles d'avoir toujours été là pour moi pendant toutes ces longues années... maintenant j'attends le vol en montgolfière (surement pour nous 50 ans on y croit)

Mon *Betti* (mon renne) et toutes ces années passées à faire la fête chez toi, que de moments mémorables, mon *Thibaut* (mon BFF) à toutes nos longues heures à discuter sur Snapchat et à oublier ce qu'on s'envoie d'un message à l'autre ! merci d'être toujours là à m'écouter me plaindre, à mon *Romain* le rigolo de la bande toujours en feu au Bunnys (oh bébééé) et à tous les autres Antoine mon Boni, Ugo, Théo et Nico.

A la **team de l'impasse des brayes** (Doudouch la Queen) : *Marie, Pierre, Charlotte et Mathilde* ! A notre secte de voisinage, les voitures qui nous font honte et à nos apéro/repas ! Ma *marie*, toujours plus, jamais dans le blingbling, à tous nos conversations sans queue ni tête, à tous nos snaps ridicules qui nous suivront sur des années, à nos virées à St trop et vive Oscar et Coquine

### **A la girl team pharma**

*Sophia et Lucile*, mes petits cochons... à toutes nos moments passés ensemble, nos délires, nos conversations interminables sur les garçons et à tous nos cocktails. Vivement la suite de nos aventures, trop de love !

*Lisou* sur qui je peux toujours compter, à toutes nos soirées passées chez toi à regarder top chef ou à réviser. Merci d'être ma plus grande fan ;)

Ma *Camille*, mon kirikou, amies depuis la 6<sup>ième</sup> et pas prêt de s'arrêter ! à nos chants endiablés sur du Céline.

Mon *Auréli*, ma Corse merci pour toutes les soirées passées ensemble à dormir chez toi pendant toutes nos années fac.

Mon bouchon, ma petite *Eve* tellement drôle, toujours prête à me faire rire et à enflammer le dance floor.

Ma *Charlotte*, ma copine de galère de thèse de science. A tous nos moments de galère qui ont fini par payer

Ma *Rebecca*, mon binôme, quelle équipe de choc ...celle qui manipe et celle qui rédige et fait les calculs ! A tous nos bons moments passés ensemble à rigoler

Ma *Clémence*, ma binôme de choc d'internat et de sous-colle partie en Afrique et qui me manque beaucoup

Ma *Julia*, qui ne s'arrête jamais de parler, telle un roc et remplie de courage que j'admire beaucoup ! à ton tour maintenant pour la thèse ;)

Ma *Julie*, qui parle tout le temps aussi, avec la main sur le cœur et qui est une super pharmacien d'officine hyper impliquée auprès de ses patients

### **A ma team de pintades, le QG de la haute organisation**

Ma *banti*, ma queen B, la maman du groupe toujours là pour moi. J'oublierai jamais nos looongues gardes, nos têtes de désespérées à 4h du mat quand rien ne fonctionne, nos fringales nocturnes, notre partage du lit pour se reposer 5 min et surtout se réchauffer et les gens avec des sacs poubelles sur la tête à 4h30 du mat ! merci d'avoir été là pendant ces moments difficiles qui au final ont été une partie de plaisir à tes côtés... puis surtout à toutes nos sorties et nos verres de trop

Ma *Juju*, avec le même humour noir et nos passions communes qui nous font dépenser trop de sous (#SEZANE), qui nous font trop pleurer (#GREGORY) ou trop baver devant nos téléphones sur insta (#BRAD)

Mon *Emma*, toujours en train de râler ou de parler fort dans la discrétion absolue mais c'est pour ça que tu me fais rire et que je t'adore

Ma *Tracy*, ma Rab partie sous les cocotiers de Guadeloupe mais qui me manque ! A toutes nos séries et nos gifts sur Patrick Dempsey pour nous remonter le moral

Ma *Maude*, toujours là pour me faire rire et jamais dans l'excès, tu es une fille au top et merci de venir exprès pour moi

### **A tous mes (nombreux) co-internes**

A mon *Zazou* (tu es pénible *zazou*) et dire qu'il y a quelques années on se détestait (« toi et ton gang de macbook au premier rang ») quel enfer quand on a vu qu'on allait être ensemble dès le premier jour de notre internat. Mais qu'est que j'aurais fait sans toi pendant toutes ces années !? les deux inséparables toujours prêts à dire, faire des bêtises et surtout se soutenir dans tous les moments clés de notre internat <3 je t'aime mon *Zaz*

A ma *Marie*, mon petit rayon de soleil avec toujours le sourire et son petit rire de fouine toujours prête pour l'aventure ! Par ce que je t'aime trop et qu'on aime tellement pas les poivrons qu'ils ont fini dans les toilettes d'un bar de Lisbonne

A tous mes co-internes du choix coronadead : Ma petite *Fleur* si délicate, *Alizée* ma Belette, *JJ*, *Lora*, *Maylis*, *Nicolas*, *Yahya*, *Rémi*, *Antoine*, *Cécilia*, *Lola*, *JB*, *Lonis*, ...les gars, on a souffert mais qu'est qu'on a ris pendant nos gardes à trois !

A tous mes « bébés » de viro : *Maelle*, *Thomas*, *Margaux*, *Ines*, *Marine*, *MAG*, *Erika* et *Lucas*...merci de m'avoir permis de m'échapper au P3 toutes ces journées haha

A tous les autres : *Amandine* ma Boniay pour toutes ces années de soutien et de galère, *Marceau* bb le 100 (oui j'ai fait la petite frange car je trust), *Marc*, *Céliasou*, *Elisabeth*, *Zeina*, *Maelia*, *Cajou*, *Clara*, *Noémie*, *Camille* pour toute ta gentillesse et nos moments d'entraide pendant toutes ces années à l'IHU

**A tous mes copains de thèse de sciences** : *Clara*, *Audrey*, *Angéline*, *Issam*, *Julien*, *Mirman* et *Rita* : toujours en galère mais toujours dans la bonne humeur (ou pas). *Clara* et *Audrey* vive nos potins, nos délires et nos rires et *Audrey* mention spéciale à nos extractions

A *Isabelle*, élue meilleure externe de la terre ! Merci d'avoir été un roc pour moi pendant ces 6 mois difficiles

**A mes chefs de virologie** : *Professeur Bernard La Scola* merci de m'avoir appris la culture et fait découvrir le monde de la recherche, *Christine*, *Anne*, *Laetitia*, *Antoine* qui m'ont tant appris toutes ces années sur les virus, la clinique et le diagnostic. Merci pour tous les bons moments partagés ensemble.

Au *Dr Sampol Emmanuelle* pour m'avoir guidée dès le début de mon externat et qui m'a insufflé le goût pour l'hospitalier.

**Aux meilleurs techniciens**, big up à la team biomol *Juju*, *Raphael*, *Steph*, *Laetitia*, *Fabi*, *Agnès*, *Christine*, *Mélissa*, *Mélinda*, *Safdar*, *Marjorie*, *Vincent*, *Karine*, *Mag*... merci d'être là je sais que je peux toujours compter sur vous, vous êtes au top les gars !

A *Audrey* et *Alix*, pour tous nos rires, nos bouffes et nos gardes corona qui ont été les meilleures !

A la team sérologie avec *Dany* le sang, *Robert*, *Mumu*, *Angèle*, *Marwa*, *Sabine*, *Antho*, *Béa*, *Isa*, *Kévin*

A la team P3, *Marion* ma copinette de galère, *Clio* et *Marie* vive les JNSPV, *Audrey* pour les neutra, *Gwillerm*, *Emeline*, *Nath*, *Ayshee*, *Maxence* et *Gilles*

A *Priscilla* pour toutes tes PCR, merci.

A ma *Lina* pour avoir fait découvrir à ton amazone le monde de la culture et des virus géants.

*« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »*

## Table des matières

<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>8</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>9</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>9</b>
<b>PARTIE I : LE SARS-CoV-2 .....</b>	<b>10</b>
A- Historique des coronavirus humains .....	10
B- Taxonomie .....	12
C- Propriétés structurales .....	13
D- Cycle viral .....	15
E- Signes cliniques et complications .....	17
F- Diagnostic virologique .....	18
1- Diagnostic direct .....	18
a) RT-PCR en temps réel.....	18
b) Détection d'antigène viral par technique immuno-chromatographique.....	19
c) Culture cellulaire .....	20
d) Séquençage .....	21
2- Diagnostic indirect sérologique.....	22
<b>PARTIE II : SARS-CoV-2 ET CO-INFECTIONS VIRALES RESPIRATOIRES.....</b>	<b>23</b>
A- Revue de la littérature .....	24
B- Matériels et méthodes .....	29
C- Résultats .....	31
1- Épidémiologie des patients non co-infectés.....	33
a) Patients SARS-CoV-2 positifs .....	33
b) Patients positifs pour au moins un autre virus que le SARS-CoV-2 .....	34
2- Épidémiologie des patients co-infectés.....	36
D- Discussion .....	38
E- Publications .....	45
a) Publication 1 : Co-infections with SARS-CoV-2 and other respiratory viruses in Southeastern France : A matter of sampling time – J Med Virol 2020.....	45
b) Publication 2 : Children account for a small proportion of diagnoses of SARS-CoV-2 infection and do not exhibit greater viral loads than adults - Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2020 .....	49
<b>PARTIE III : CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>54</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>55</b>

## Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

Ct : cycle threshold

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

EV : entérovirus

HAdV : adénovirus humain

HBoV : bocavirus humain

HCoV : coronavirus humains

HMPV : métapneumovirus humain

HPIV : virus parainfluenza humain

HRV : rhinovirus humain

ICTV : comité international de taxonomie des virus

IHU : institut hospitalo-universitaire

Laboratoire NSB3 : laboratoire de niveau sécurité biologique 3

LBA : lavage broncho-alvéolaire

MERS-CoV : coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient

NGS : next-generation sequencing (séquençage de nouvelle génération)

RSV : virus respiratoire syncytial

RT-PCR : réaction de polymérisation en chaîne en temps réel

SARS-CoV : coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère

SARS-CoV-2 : coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère

## Liste des figures

Figure 1 : Chronologie des principaux évènements liés au SARS-CoV-2, Nat Rev Microbiol 2021 .....	12
Figure 2 : Arbre phylogénétique reliant le SARS-CoV-2 aux autres coronavirus (en rouge et orange les coronavirus responsables de pathologies chez l'Homme), Nat Microbiol 2020 .....	13
Figure 3 : Structure du SARS-CoV-2 et protéine ACE2, Turk J Med Sci 2020 .....	14
Figure 4 : Étape du cycle viral du SARS-CoV-2, Nat Rev Microbiol 2021 .....	16
Figure 5 : Signes cliniques de la COVID-19, J Immunol 2020 .....	17
Figure 6 : Culture cellulaire de SARS-CoV-2 sur cellules Vero-E6, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2021 .....	21
Figure 7 : Étapes du séquençage.....	22
Figure 8 : Distribution des pathogènes respiratoires chez les patients co-infectés avec le SARS-Cov2, Virus Res 2020 .....	26
Figure 9 : Taux de co-infections parmi 105 patients décédés du SARS-CoV-2 en Iran, J Med Virol 2021 .....	26
Figure 10 : Proportion des pathogènes respiratoires détectés chez des patients positifs et négatifs pour le SARS-CoV-2, J Med Virol 2020 .....	27
Figure 11 : Schéma de l'étude réalisée entre le 1 <sup>er</sup> mars 2020 et le 30 avril 2020 .....	32
Figure 12 : Répartition temporelle des SARS-CoV-2 positifs.....	33
Figure 13 : Répartition temporelle du nombre de virus respiratoires diagnostiqués en fonction du nombre total de prélèvements testés (demandes).....	34
Figure 14 : Répartition des co-infections dans la cohorte des patients SARS-CoV-2 négatifs.....	35
Figure 15 : Comparaison chez les 27 patients co-infectés des Ct des qPCR ciblant le SARS-CoV-2 et les autres virus respiratoires au moment du diagnostic .....	37

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Répartition du nombre de cas positifs en fonction du nombre total de demandes .....	34
Tableau 2 : Répartition des co-infections chez les patients SARS-CoV-2 positifs .....	36
Tableau 3 : Caractéristiques cliniques des 27 patients co-infectés SARS-CoV-2 / autres virus respiratoires.....	37



## **PARTIE I : LE SARS-COV-2**

### **A- HISTORIQUE DES CORONAVIRUS HUMAINS**

Le premier coronavirus humain (HCoV) a été isolé en 1965 à partir de l'écoulement nasal d'un patient et a été nommé B814 [1]. Puis deux autres espèces ont été isolées à la fin des années 1960 : les coronavirus 229E (HCoV-229E) et OC43 (HCoV-OC43) par des équipes de recherches américaines [2,3]. Ces virus sont impliqués dans 15 à 29% des rhumes [4] et sont responsables d'infections respiratoires souvent bénignes (fièvre, toux, céphalées, rhinorrhées). C'est en 2003 qu'émerge le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV) dans le delta de la rivière des perles à Guangdong en Chine [5]. L'épidémie liée à ce virus est reconnue officiellement suite aux cas dans et autour de l'hôpital Prince of Wales de Hong Kong le 10 mars 2003 [6]. Les signes cliniques les plus fréquemment rapportés sont la fièvre et un syndrome pseudo-grippal associés à des troubles respiratoires et dans de plus rares cas à des troubles gastro-intestinaux. L'évolution des contaminations dans le monde est croissante jusqu'en juillet 2003, puis se stabilise avant de diminuer. Le SARS-CoV est responsable d'une épidémie qui a touché 29 pays entre novembre 2002 et juillet 2003 avec 8098 patients infectés pour 774 décès.

Les coronavirus humains NL63 (HCoV-NL63) et HKU1 (HCoV-HKU1) sont ensuite décrits respectivement en 2004 et 2005 [7,8]. Ils sont aussi responsables de rhumes avec des symptômes tels que rhinorrhées, toux, et fièvre. En septembre 2012, un sixième coronavirus humain émerge au Moyen Orient : le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) [9]. Il a été isolé des poumons d'un homme de 60 ans décédé à la suite d'une insuffisance respiratoire sévère en Arabie Saoudite à Jeddah. Les signes cliniques sont assez

variés : ils vont de la pneumonie non sévère à l'insuffisance respiratoire sévère avec choc septique et insuffisance rénale pouvant conduire au décès [10].

En décembre 2020, un nouvel agent viral responsable de cas de pneumonies d'étiologies indéterminées émerge en Chine, à Wuhan dans la Province de Hubei [11]. Il est initialement identifié à partir du lavage broncho-alvéolaire (LBA) de trois patients atteints de pneumopathies. Plus de soixante cas similaires sont décrits dans les jours suivants. Les deux tiers des patients hospitalisés ont tous un lien direct ou indirect avec le "marché de gros de fruits de mer" à Huanan [12] où des animaux sauvages vivants sont vendus.

Rapidement des mesures diagnostiques sont développées et grâce aux tests virologiques d'amplification en chaîne de l'ARN en temps réel (RT-PCR) ou encore grâce aux nouvelles techniques de séquençage à haut débit aussi appelé "de nouvelle génération" (NGS) la séquence virale est obtenue le 7 janvier 2020. Il s'agit d'un nouveau coronavirus humain, d'abord appelé 2019-nCoV puis rebaptisé par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) SARS-CoV-2 (pour severe acute respiratory syndrome coronavirus 2), virus responsable de la maladie à coronavirus 2019, ou COVID-19 (pour coronavirus disease 2019) [13]. Rapidement, des cas hors de Chine sont détectés comme en Thaïlande et au Japon respectivement les 13 et 15 janvier 2020, à Seattle aux États-Unis le 21 janvier, en France le 24 janvier, en Australie le 25 janvier. Le premier cas africain est déclaré en Égypte le 14 février 2020 et l'OMS déclare l'état de pandémie mondiale le 11 mars 2020.

A ce jour (septembre 2021) on compte plus de 211 millions de cas à travers le monde pour 4,5 millions de décès (<https://www.ecdc.europa.eu/en/geographical-distribution-2019-ncov-cases>).

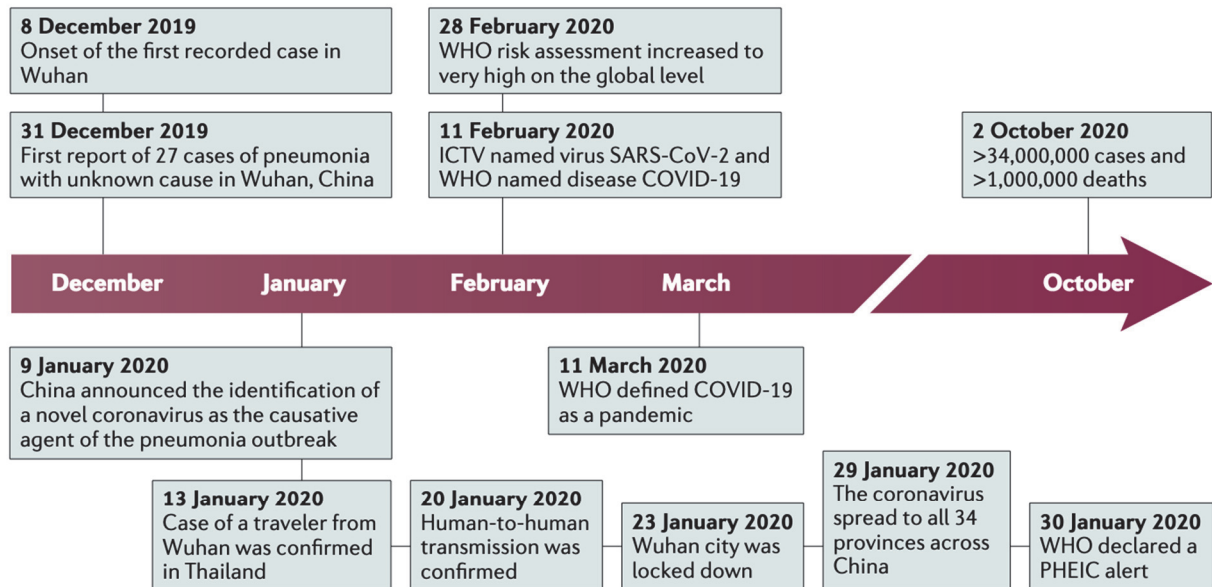


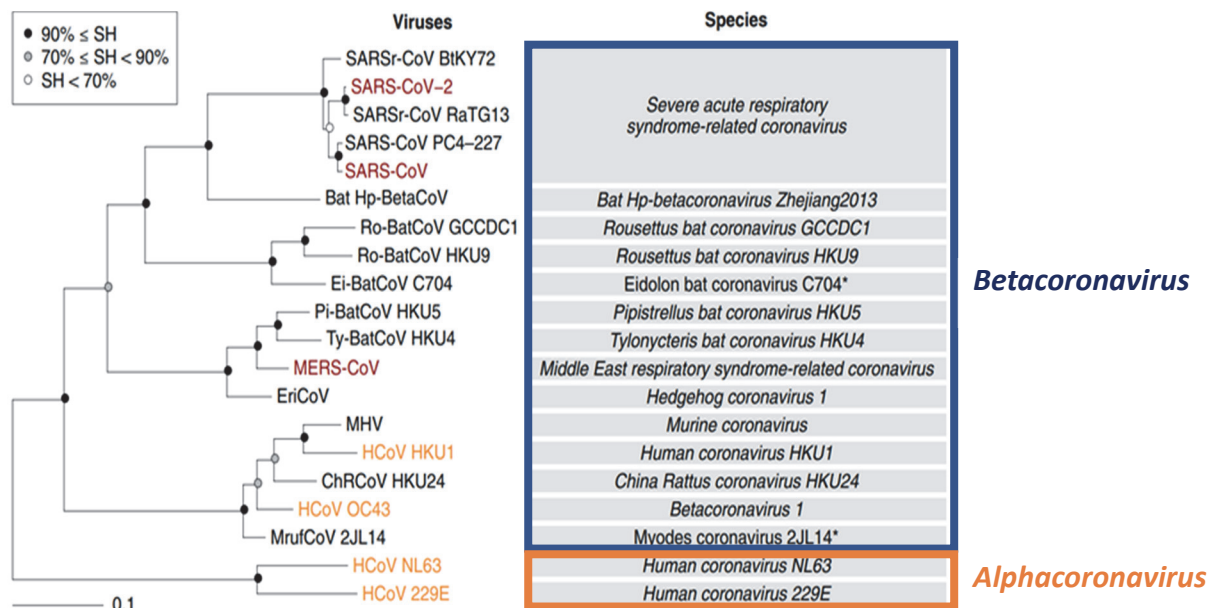
Fig. 1 | **Timeline of the key events of the COVID-19 outbreak.** The first recorded cases were reported in December 2019 in Wuhan, China. Over the course of the following 10 months, more than 30 million cases have been confirmed worldwide. COVID-19, coronavirus disease 2019; ICTV, International Committee on Taxonomy of Viruses; PHEIC, public health emergency of international concern; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; WHO, World Health Organization.

**Figure 1 : Chronologie des principaux évènements liés au SARS-CoV-2, Nat Rev Microbiol 2021 [14]**

## B- TAXONOMIE

La classification actuelle des coronavirus comprend 39 espèces réparties dans cinq genres, 27 sous-genres, et deux sous-familles appartenant à la famille *Coronaviridae*, au sous-ordre *Cornidovirineae*, à l'ordre *Nidovirales* et au royaume *Riboviria*. Les sept coronavirus humains pathogènes pour l'homme appartiennent à deux sous-groupes différents : d'une part celui des alphacoronavirus regroupant les HCoV-229E et HCoV-NL63 et d'autre part celui des betacoronavirus regroupant le SAR-CoV, les HCoV-HKU1 et HCoV-OC43, le MERS-CoV et le SARS-CoV-2.

Le SARS-CoV-2 appartient au sous-genre *Sarbecovirus* et à l'espèce Severe acute respiratory syndrome related coronavirus (SARSr-CoV) qui comprend également le SARS-CoV. Du fait de sa grande proximité génétique avec le SARS-CoV, l'ICTV (Comité International de Taxonomie des Virus) l'a nommé SARS-CoV-2 le 11 février 2020 [13].



**Figure 2 : Arbre phylogénétique reliant le SARS-CoV-2 aux autres coronavirus (en rouge et orange les coronavirus responsables de pathologies chez l'Homme), Nat Microbiol 2020 [13]**

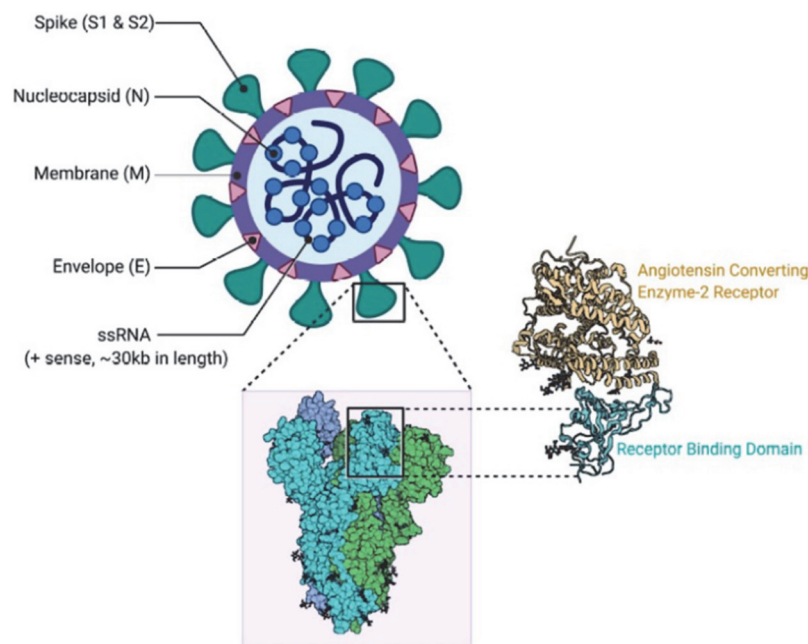
### C- PROPRIETES STRUCTURALES

Le SARS-CoV-2 est un virus à ARN simple brin non segmenté de polarité positive (29 903 nucléotides) ce qui en fait l'un des virus à ARN avec le plus long génome capable d'infecter l'Homme.

Il comprend 4 protéines structurales majeures :

- la **protéine Spike (S)** : glycoprotéine à la surface du virus qui comprend deux sous-unités (S1 et S2). La sous-unité S2 est impliquée dans l'attachement du virus à son récepteur Enzyme de conversion de l'angiotensine de type II (ACE2) via le domaine de liaison au récepteur (Receptor Binding Domain (RBD)) [15]. Elle permet la liaison du virus aux cellules cibles (cellules respiratoires essentiellement) et provoque la fusion cellulaire. Elle induit des anticorps neutralisants.

- la **glycoprotéine d'enveloppe (E)** : glycoprotéine transmembranaire, impliquée dans l'assemblage et la maturation virale [16].
- la **glycoprotéine membranaire (M)** : glycoprotéine de surface, impliquée dans l'assemblage des virions [17].
- la **protéine de la nucléocapside (N)** : protéine liée à l'ARN viral qui participe à son entrée dans la cellule hôte et à l'assemblage des virions.



**Figure 3 : Structure du SARS-CoV-2 et protéine ACE2, Turk J Med Sci 2020 [18]**

Le SARS-CoV-2 code aussi pour 16 protéines non structurales (NSP1 à NSP16) incluant les protéases de type papaïne (PLP ou PLpro) et de type 3C (3CLpro), ainsi que les protéines du complexe Réplicase-Transcriptase impliquées dans la réplication et la transcription virale et comprenant notamment l'ARN polymérase ARN-dépendante [19].

## **D- CYCLE VIRAL**

L'entrée du virus se fait via l'interaction entre le domaine RBD de la protéine Spike et son récepteur ACE2 au niveau de différents tissus (muqueuse nasale, nasopharynx, poumons, estomac, moelle osseuse, rate, reins, foie et cerveau) pouvant ainsi expliquer les signes cliniques variés [20]. L'entrée peut se faire de deux manières : via le récepteur TMPRSS2 (entrée par fusion) ou via la clathrine (entrée par endocytose), présents à la surface cellulaire.

Une fois dans le cytosol, l'ARN viral est traduit (après élimination de la protéine N) directement par les ribosomes de la cellule (du fait de sa polarité positive) en polyprotéines pp1a et pp1ab avec libération des protéines 3CL-pro et PL-pro.

Commence alors la réplication virale après assemblage du complexe de réplication-transcription avec formation des ARN sous-génomiques qui seront ensuite traduits pour former les protéines structurales S, E et M. La protéine N est formée dans le cytosol puis bourgeonne dans le compartiment intermédiaire du réticulum endoplasmique-appareil de Golgi (ERGIC) où elle s'assemble avec les autres protéines structurales avant libération des nouveaux virions matures et infectieux par exocytose [21].

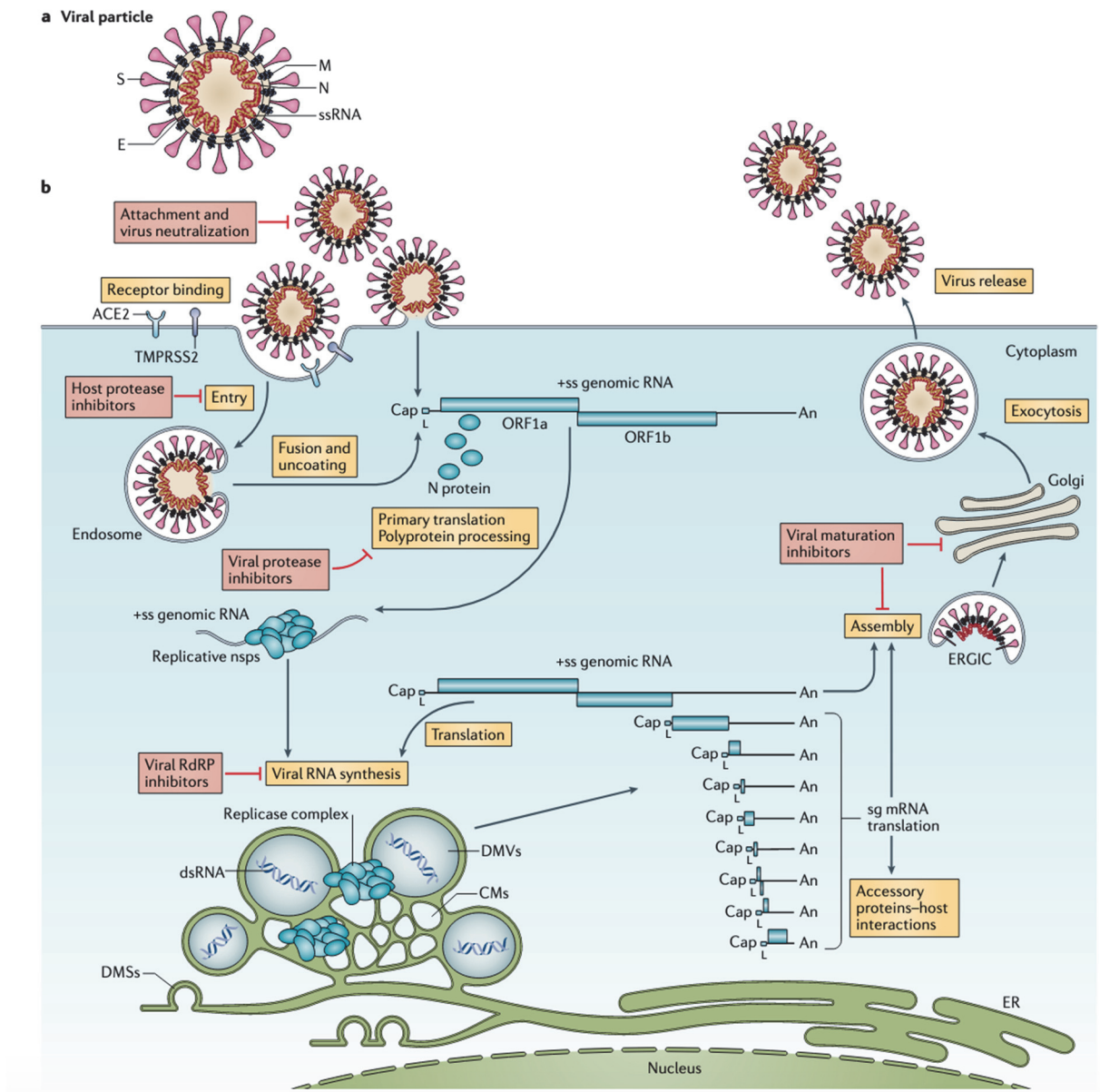


Figure 4 : Étape du cycle viral du SARS-CoV-2, Nat Rev Microbiol 2021 [22]

## E- SIGNES CLINIQUES ET COMPLICATIONS

Les signes cliniques initiaux de la COVID-19 consistent souvent en ceux d'autres infections virales respiratoires à savoir de la fièvre, une toux souvent sèche, accompagnés de myalgies et plus rarement de rhinorrhées, de maux de gorge, de douleurs thoraciques ou de diarrhées/vomissements [23,24]. Une anosmie et une agueusie sont souvent rapportées par les patients [25]. Des manifestations cutanées à types d'éruption ou lésions érythémateuses ont été décrits (surtout dans les formes bénignes de la maladie) [26].

Les syndromes de détresses respiratoires aiguës, les surinfections bactériennes et les thromboses sont les complications les plus fréquentes et sont associés à l'hospitalisation en unité de réanimation.

Un âge avancé (>65 ans) et de nombreuses comorbidités ont été listées comme facteurs de risque des formes cliniques sévères (diabète, obésité, maladies cardio-vasculaires, hypertension) [27].

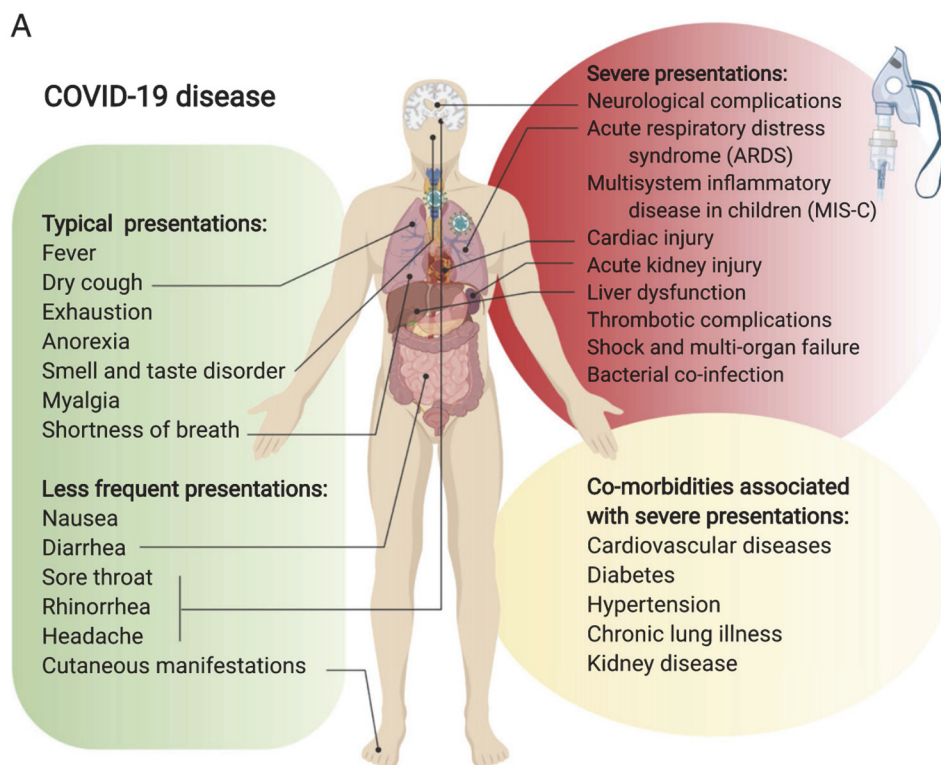


Figure 5 : Signes cliniques de la COVID-19, J Immunol 2020 [24]



## **F- DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE**

Plusieurs prélèvements peuvent être réalisés pour la détection au laboratoire de virologie clinique d'une infection SARS-CoV-2.

- Au niveau des voies aériennes supérieures avec essentiellement des écouvillonnages naso-pharyngés, le recueil de crachats, des aspirations naso-pharyngées
- Au niveau des voies aériennes inférieures : aspiration bronchique, recueil de LBA, éventuellement biopsie pulmonaire
- Recueil de selles ou écouvillonnages rectaux
- Prélèvement de sang pour la détection du virus mais surtout pour la recherche d'anticorps anti-SARS-CoV-2

Il existe différents types de diagnostic virologique : le diagnostic direct permettant de détecter le génome viral ou des antigènes viraux, et le diagnostic indirect, sérologique, permettant la détection des anticorps spécifiques du virus.

### **1- Diagnostic direct**

#### ***a) RT-PCR en temps réel***

La RT-PCR en temps réel a été développée dès la disponibilité du génome viral (11 janvier 2020) afin de le mettre en évidence par amplification et hybridation moléculaires. Il s'agit de la technique de référence pour diagnostiquer les infections à SARS-CoV-2.

Cette technique consiste à amplifier la séquence connue d'un fragment du génome du SARS-CoV-2 en la ciblant par deux amorces et une sonde d'hydrolyse marquée par un fluorochrome.

Cette technique de RT-PCR comporte plusieurs étapes, une fois que l'ARN viral a été extrait à partir du prélèvement :

- Une étape de **rétro-transcription** de l'ARN en ADNc (ADN complémentaire) par une transcriptase inverse. L'ADNc synthétisé servira alors de matrice pour la réaction de PCR
- **Dénaturation de l'ADN** : séparation du double brin synthétisé préalablement
- **Hybridation** des amorces à niveau de chaque brin dénaturé avec une température spécifique à la séquence ciblée
- **Élongation** via l'ADN polymérase du brin complémentaire en totalité et grâce à l'activité 3'exonucléasique de la polymérase il va y avoir hydrolyse de la sonde et libération du fluorochrome dans le milieu réactionnel

Ces 3 étapes qui correspondent en fait à un cycle de PCR sont ensuite répétées environ 40 fois et l'augmentation de l'intensité de fluorescence détectée est directement proportionnelle à la quantité d'ADN. On établit ainsi une courbe de fluorescence qui permet de déterminer le cycle seuil (cycle threshold (Ct)), correspondant au nombre de cycles à partir duquel l'intensité de fluorescence augmente significativement au-delà du bruit de fond et de manière linéaire, indiquant l'amplification du fragment ciblé du génome viral.

Le succès de la détection du SARS-CoV-2 peut dépendre en partie de la qualité du prélèvement, des conditions de transport et de la conservation des échantillons.

#### ***b) Détection d'antigène viral par technique immuno-chromatographique***

Les tests rapides d'orientation diagnostique (TROD) ont été développés afin de compléter le diagnostic du SARS-CoV-2 dans les cabinets médicaux ou les pharmacies d'officines. Ils

détection par principe immuno-chromatographique les protéines (antigènes) du SARS-CoV-2 à partir d'un prélèvement nasal ou naso-pharyngé.

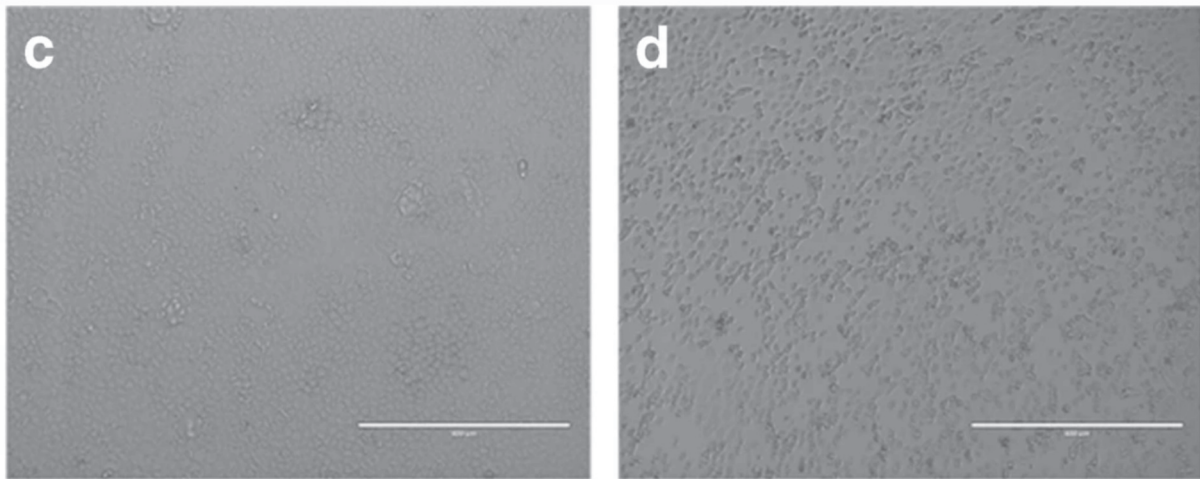
Ce sont des tests simples d'utilisation pouvant même être réalisés par le patient (auto-test) avec des résultats rapides obtenus en moins de 30 minutes. Avec une sensibilité moindre que celle de la RT-PCR, les résultats (surtout ceux négatifs) doivent être confirmés par une technique de référence selon l'indication et la situation clinique.

### *c) Culture cellulaire*

A l'institut hospitalo-universitaire (IHU) Méditerranée Infection, depuis le début de la pandémie nous avons inoculé en culture dans le laboratoire NSB3 près de 9000 échantillons positifs en RT-PCR pour le SARS-CoV-2. Nous avons testé différentes lignées cellulaires [28] et avons retenu les cellules Vero E6, cellules de reins de singes verts Africains pour l'isolement du SARS-CoV-2 en routine.

Brièvement, 500 µl de l'échantillon de départ (frais ou stocké à +4°C, -20°C ou -80°C) ont été filtrés à 0,22 µm (Merck Millipore, Darmstadt, Allemagne) puis inoculés sur des plaques 96 puits contenant des cellules Vero E6 dans du milieu de culture (Minimum Essential Medium) avec 4% de sérum de veau foetal et 1% de glutamine. Ensuite, les plaques ont été incubées à 37°C sous 5% de CO<sub>2</sub> après une centrifugation à 4000 g. L'effet cytopathogène a été observé quotidiennement.

La figure 6 montre des cellules Vero E6 non infectées (figure 6c) et des cellules Vero E6 infectées par le SARS-CoV-2 48h post-inoculation.



**Figure 6 : culture cellulaire de SARS-CoV-2 sur cellules Vero-E6, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2021 [28]**

Cette expertise dans la culture cellulaire nous a permis d'établir rapidement une corrélation entre les Ct détectés par RT-PCR et la viabilité et répllication virale en culture comme marqueur de la contagiosité des patients [29].

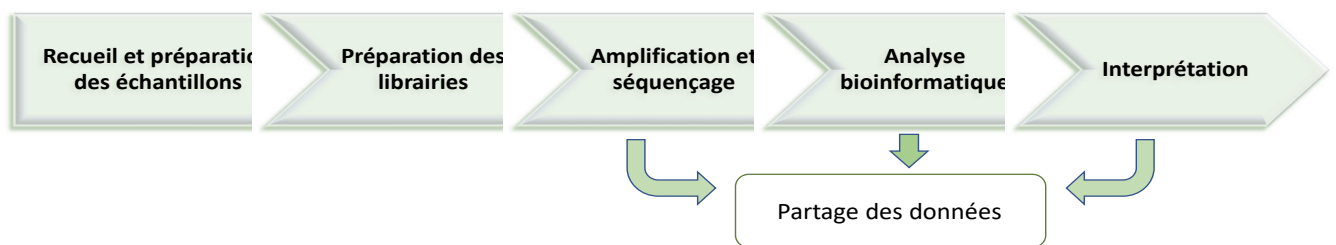
#### *d) Séquençage*

Le séquençage de nouvelle génération (NGS) ou séquençage à haut débit est une technologie développée depuis le début du 21<sup>ème</sup> siècle et d'introduction récente dans les laboratoires de microbiologie et virologie clinique, qui permet de séquencer l'ADN ou l'ARN beaucoup plus rapidement que les méthodes précédentes comme le séquençage par la technologie Sanger. Dès juillet 2020, le NGS a permis d'observer une grande diversité entre les souches de SARS-CoV-2 parmi les cas diagnostiqués à l'IHU Méditerranée Infection avec la mise en évidence de plusieurs variants [30], démontrant l'intérêt d'une surveillance épidémiologique génomique. A ce jour (au 13 septembre 2021) ont par exemple été identifiés 2764 patients positifs au variant communément appelé Marseille-4 (20A.EU2 selon la classification Nextstrain), 3622 patients positifs au variant alpha, 221 patients positifs au variant beta et 2859 patients positifs au variant delta.

Différentes technologies de séquençage modernes sont disponibles mais elles présentent trois étapes communes après l'extraction des acides nucléiques :

- Préparation des bibliothèques
- Amplification
- Séquençage

Les reads obtenus sont ensuite assemblés pour construire le génome entier en se basant sur un génome de référence. Après analyse bio-informatique, les positions et la nature de chaque mutation sont étudiées, permettant ainsi de déterminer les variants du SARS-CoV-2.



**Figure 7 : Étapes du séquençage**

## **2- Diagnostic indirect sérologique**

La détection d'anticorps anti-SARS-CoV-2 par techniques sérologiques n'est pas utilisée pour le diagnostic d'infection mais pour la détermination du statut immunitaire du patient vis-à-vis du SARS-CoV-2, un résultat positif indiquant une infection ancienne ou en cours et/ou une vaccination. Sont détectés des anticorps post-infectieux IgG anti-SARS-CoV-2 (dirigés contre la protéine N) ou post-infectieux et/ou post-vaccinaux (dirigés contre la protéine S) par technique immuno-enzymatique ELISA. Il existe aussi des tests rapides à lecture subjective permettant la détection des IgM et/ou IgG anti SARS-CoV-2.

## **PARTIE II : SARS-COV-2 ET CO-INFECTIONS VIRALES** **RESPIRATOIRES**

Une co-infection virale peut être définie comme la détection concomitante de plusieurs virus respiratoires dans un même laps de temps.

Dans la littérature, il existe surtout des revues et méta-analyses [31] sur les co-infections bactériennes associées au SARS-CoV-2 car on sait depuis de nombreuses années que les infections virales peuvent prédisposer aux infections bactériennes, augmentant ainsi leur morbi-mortalité [32]. L'une des associations les mieux documentées est celle des surinfections bactériennes survenant au cours de la grippe [33–35]. Compte-tenu de la fréquence des infections virales respiratoires en saison hivernale, la question des co-infections virales s'est aussi rapidement posée concernant le SARS-CoV-2 : peut-il être associé à d'autres virus respiratoires et si oui à quelle fréquence et quelles en sont les conséquences ?

Il a été rapporté qu'avec les coronavirus humains saisonniers, les taux de co-infections avec d'autres virus respiratoires pouvaient atteindre jusqu'à 42% [36]. Dans respectivement 38% et 42% des cas, les HCoV-OC43 et HCoV-HUKU-1 pouvaient être associés à d'autres virus respiratoires et notamment le virus respiratoire syncytial (RSV) [37] ou le rhinovirus (HRV) [37]. Aucune différence au niveau des signes cliniques n'a été observée pour les personnes co-infectées par rapport à celles infectées individuellement par l'un ou l'autre virus.

Les signes cliniques de la COVID-19, souvent similaires à ceux retrouvés avec les autres virus respiratoires (fièvre, asthénie, toux, dyspnée) rendent difficile le diagnostic et la détection de co-infections. Avec le développement de nouvelles approches diagnostiques, notamment les tests de biologie moléculaire multiplex détectant simultanément de 2 à plus de 20 agents infectieux, il est devenu plus facile de détecter les co-infections, permettant ainsi une prise en charge rapide et adaptée des patients par un diagnostic plus exhaustif, et optimisant l'étude de ces co-infections [38,39].

Dans un premier temps, je ferai dans ce manuscrit de thèse un point sur les co-infections répertoriées dans la littérature puis je présenterai les résultats de mon analyse sur les co-infections SARS-CoV-2 et les autres virus respiratoires diagnostiqués à l'IHU Méditerranée Infection à Marseille entre le 1<sup>er</sup> mars et le 30 avril 2020.

## **A- REVUE DE LA LITTERATURE**

Les taux de co-infections avec le SARS-CoV-2 dans la littérature sont variables d'une étude à l'autre. En effet, les estimations des taux de co-infections peuvent aller de 0,3% à 3,2% avec seuls quelques cas sporadiques décrits dans certaines cohortes [23,40] à 26% dans d'autres études [41].

La première étude chinoise (à ma connaissance) réalisée sur le sujet des co-infections par Lin et al [40] a conclu que sur 186 patients choisis au hasard rétrospectivement entre le 20 janvier et le 1<sup>er</sup> février 2020, 92 étaient positifs pour le SARS-CoV-2 et parmi eux, 6 étaient co-infectés avec du HRV, du RSV, du métapneumovirus (HMPV), du parainfluenza type 2 (HPIV-2) et du HCoV-HKU1, représentant 3,2% des patients totaux et 6,5% des patients SARS-CoV-2 positifs.

Une autre étude chinoise réalisée à la suite par Ding et al [42] à Wuhan a rapporté 5 co-infections chez 115 patients SARS-CoV-2 positifs (4,35%) : 3 par le virus de la grippe A et 2 par le virus de la grippe B. Les symptômes cliniques étaient communs à ceux observés chez les patients mono-infectés par le SARS-CoV-2 (fièvre, toux, asthénie et céphalées) sauf pour deux patients qui avaient en plus une pharyngite et une congestion nasale, signes cliniques peu fréquents dans la COVID-19. Aucune différence de pronostic n'a été observée entre les patients co-infectés et les patients mono-infectés.

Toujours sur le continent Asiatique, une étude réalisée à Singapour [43] entre le 5 février et le 15 avril 2020 a rapporté un taux de co-infections de 1,4% parmi les patients SARS-CoV-2 positifs (6 patients / 431 patients). Ils ont répertorié 3 infections à HRV, 2 à HPIV (non typés) et une à HCoV-229E. Ils ont observé une différence statistiquement significative entre les taux de patients co-infectés SARS-CoV-2 négatifs versus SARS-CoV-2 positifs (respectivement 4,8 % versus 1,4%,  $p < 0,0001$ ). Pour les 6 patients co-infectés il n'y a pas eu de progression vers la pneumonie, ni de recours à la ventilation mécanique assistée ou à l'intubation.

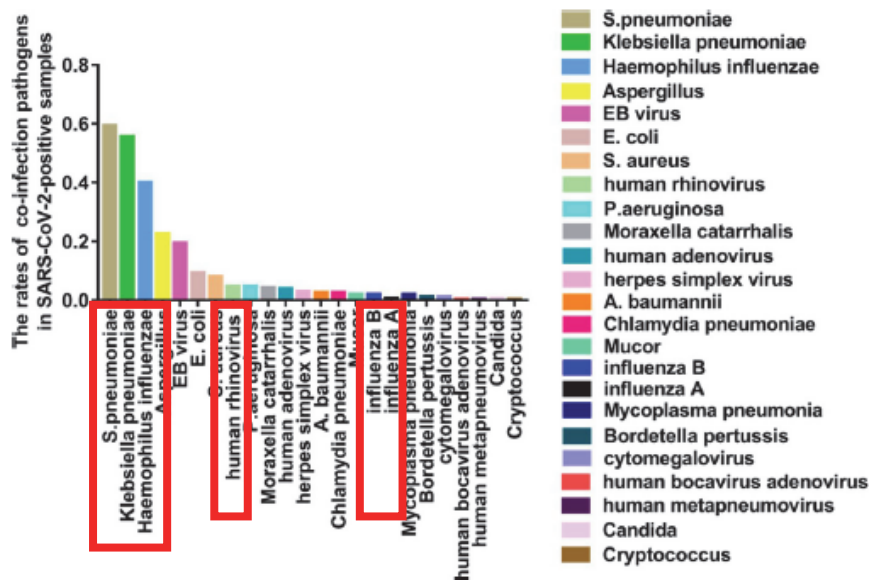
Une autre étude rétrospective réalisée en Chine dans la Province de Jiangsu [44] entre le 22 janvier et le 2 février 2020 a rapporté l'un des plus hauts taux de co-infections dans la littérature : 242 patients co-infectés (toutes origines microbiologiques confondues) sur 257 patients SARS-CoV-2 positifs (94,2%).

Dans cet article, la majorité des co-infections étaient bactériennes (91,8%) suivies par 31,5% de co-infections virales puis 23,3 % de co-infections fongiques.

Le top trois des co-infections bactériennes rapportées comprenait *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*.

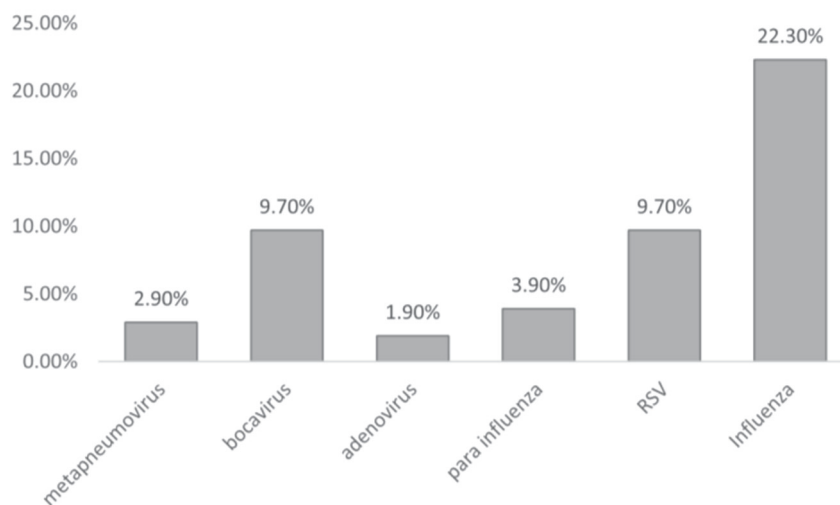
Pour les virus respiratoires ils ont comptabilisé 11 cas de co-infections avec le HRV, 10 avec les adénovirus (HAdV), 5 avec le virus de la grippe B, 2 avec le virus de la grippe A, 1 avec le bocavirus (HBoV) et 1 avec le métapneumovirus (HMPV). Les co-infections variaient selon les tranches d'âge des patients et par exemple l'unique co-infection rapportée avec le HMPV a été détectée chez un patient de moins de 15 ans alors que les co-infections avec les virus de la grippe A et le HBoV n'ont été détectés que chez les patients entre 15 ans et 44 ans. La détection du HRV a été la plus élevée dans la tranche d'âge des 44 à 64 ans.





**Figure 8 : Distribution des pathogènes respiratoires chez les patients co-infectés avec le SARS-Cov2, Virus Res 2020 [44]**

Une étude menée par Hashemi et al [45] en Iran au Nord de Khorasan entre le 2 mars et le 20 avril 2020 a étudié les taux de co-infections parmi 105 patients décédés du SARS-CoV-2. Ils ont identifié une co-infection avec le virus de la grippe dans 22,3 % des cas, avec le RSV et le HBoV dans 9,7 % des cas, avec les HPIV dans 3,9 % des cas, avec le HMPV dans 2,9 %, et avec l'HAdV dans 1,9 % des cas. La plupart des patients co-infectés étaient des hommes âgés de plus de 60 ans avec des comorbidités telles que des maladies cardio-vasculaires.



**Figure 9 : Taux de co-infections parmi 105 patients décédés du SARS-CoV-2 en Iran, J Med Virol 2021 [45]**

Une étude cette fois-ci menée à New-York (États-Unis) par Nowak et al [46] entre le 16 mars et le 20 avril 2020 a recensé 36 cas de co-infections sur 1204 patients SARS-CoV-2 positifs testés aussi pour au moins un autre virus respiratoire (3,0%). Le taux de co-infection le plus important était celui avec les HCoV (1,54%) avec 17 co-infections (7 avec le HCoV NL63, 5 avec le HCoV-HKU1, 4 avec le HCoV-229E et 1 avec le HCoV-OC43) suivi par les co-infections avec les HRV avec 8 cas. Pendant cette période, le taux de circulation virale le plus haut était pour les HRV et les HCoV, expliquant sûrement le nombre élevé de co-infections avec ces virus. La moyenne d'âge des patients co-infectés était de 60,1 ans avec 44% d'hommes et 56% de femmes.

Pathogen	SARS-CoV-2 status					
	37 Detected			111 Not Detected		
	Tested	Detected	Percent	Tested	Detected	Percent
Influenza	1204	1	0.08%	845	13	1.54%
Influenza A	1204	1	0.08%	845	10	1.18%
Influenza B	1204	0	0.00%	845	3	0.36%
Respiratory Syncytial Virus	1270	4	0.31%	845	13	1.54%
<b>Other Coronaviridae</b>	1103	17	1.54%	776	28	3.61%
Coronavirus NL63	1103	7	0.63%	776	16	2.06%
Coronavirus HKU1	1103	5	0.45%	776	8	1.03%
Coronavirus 229E	1103	4	0.36%	776	2	0.26%
Coronavirus OC43	1103	1	0.09%	776	2	0.26%
<b>Rhinovirus/Enterovirus</b>	1103	8	0.73%	776	46	5.93%
Human Metapneumovirus	1103	4	0.36%	776	15	1.93%
Adenovirus	1103	2	0.18%	776	3	0.39%
Parainfluenza Virus	1103	0	0.00%	776	4	0.52%
Parainfluenza Virus 1	1103	0	0.00%	776	2	0.26%
Parainfluenza Virus 2	1103	0	0.00%	776	0	0.00%
Parainfluenza Virus 3	1103	0	0.00%	776	2	0.26%
Parainfluenza Virus 4	1103	0	0.00%	776	0	0.00%

**Figure 10 : Proportion des pathogènes respiratoires détectés chez des patients positifs et négatifs pour le SARS-CoV-2, J Med Virol 2020 [46]**

Une étude Californienne réalisée par Kim et al [47] a rapporté l'un des taux les plus élevés de la littérature : 24 patients co-infectés sur 116 patients SARS-CoV-2 positifs (26,1%). Le top 3 des virus responsables de co-infections étaient les HRV (8), les RSV (6) et les autres HCoV non typés (5). L'âge moyen entre les patients co-infectés et non co-infectés ne différait pas significativement (respectivement 46,9 ans vs 51,1 ans).

Sur le continent Européen, une étude espagnole (Valence) a été réalisée par Blasco et al [48] durant le mois de mars 2020. Ces auteurs ont observé 2,9% de co-infections (3 cas parmi 103 patients SARS-CoV-2 positifs).

Une étude parisienne [49] réalisée entre le 25 janvier et le 30 avril 2020 a comptabilisé 6% de co-infections (49/806 patients) : HRV (n= 17), HCoV (n=15), HAdV (n=7), HPIV (n=5), HPMV (4), influenza (4) et RSV (2). Il n'y avait pas de différence d'âge entre les patients co-infectés et mono-infectés par le SARS-CoV-2 (moyennes de respectivement 58 ans versus 59 ans) ni dans les signes cliniques tels que la dyspnée, les expectorations, la toux et les myalgies contrairement à la fièvre et aux céphalées (plus élevées dans le groupe des patients mono-infectés).

Dans une autre étude parisienne, menée par Burell et al [50] 7% des patients (21/301) étaient co-infectés SARS-CoV-2 / autres virus respiratoires. Parmi les patients hospitalisés en unités de soins intensifs, la proportion de patients co-infectés était significativement inférieure à celle de patients mono-infectés par le SARS-CoV-2 (19% versus 46,7%).

## B- MATERIELS ET METHODES

A l'IHU Méditerranée Infection à Marseille nous avons commencé les tests de RT-PCR pour diagnostiquer les infections à SARS-CoV-2 à la fin du mois de Janvier 2020 et le premier patient positif a été diagnostiqué le 27 février 2020 [51]. Nous avons testé les patients issus de l'IHU Méditerranée Infection et des quatre hôpitaux de l'Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille (AP-HM : hôpital de la Timone, hôpital de la Conception, hôpital Nord, et hôpital Sainte Marguerite) ainsi que des prélèvements issus de différents autres sites de Marseille, des Bouches-du-Rhône, et des autres départements de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur (l'IHU était pendant plusieurs semaines le seul laboratoire à réaliser des tests de RT-PCR). Dans notre étude nous n'avons analysé que les données des prélèvements issus de l'AP-HM. Entre le **1<sup>er</sup> mars 2020** et le **30 avril 2020** (semaines 10 à 18 de l'année 2020) nous avons réalisé 38,633 tests RT-PCR pour le SARS-CoV-2 à partir de prélèvements respiratoires (écouvillons naso-pharyngés, crachats, LBA, aspirations bronchiques).

La technique de RT-PCR utilisée a été celle mise en place au sein de notre institut au début de la pandémie et décrite par Amrane et al [52]. Rapidement, l'ARN a été extrait à partir de 200 µL de prélèvement naso-pharyngé en utilisant le EZ1 Virus Mini Kit v2.0 (Qiagen®, Courtaboeuf, France). Pour détecter l'ARN du SARS-CoV-2 nous avons utilisé un système qui cible la protéine E d'enveloppe comme décrit précédemment par l'équipe de Corman et al [53] et un témoin ARN positif synthétique pour s'assurer du bon fonctionnement de la RT-PCR (Charité virology institute - Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Allemagne). Un contrôle interne ARN de phage a été ajouté à chaque échantillon clinique avant l'extraction pour garantir la précision de l'extraction de l'ARN et de l'amplification par RT-PCR. Toutes les RT-PCR ont été réalisés sur des LightCycler 480 instrument (Roche Diagnostics) selon le protocole suivant : une étape de rétro-transcription à 50°C pendant 20 secondes, une étape d'activation à 95°C pendant 10 secondes, puis une étape d'amplification à 95°C pendant 15 secondes et à 60°C

pendant 30 secondes avant de finir avec une étape de refroidissement à 40°C pendant 30 secondes, et ce pendant 40 cycles.

En parallèle, durant la même période, nous avons testé 4 222 prélèvements respiratoires afin d'avoir une approche syndromique et ainsi détecter rapidement d'autres virus respiratoires que le SARS-CoV-2. Pour cela nous avons abordé trois approches différentes :

- Tests PCR multiplex en temps réel avec le panel **Fast Track Diagnostic Respiratory** (FTDR) pathogens 21 kit (Fast Track Diagnosis, Luxembourg) qui cible simultanément 20 virus et 1 bactérie à l'aide de cinq tubes contenant un mélange de sondes et d'amorces
  - *tube-1* : [Grippe A, Grippe A sous-type H1N1 (Pandemic H1N1), rhinovirus humain (HRV), Grippe B (Flu B)]
  - *tube-2* : [coronavirus humain NL63 (HCoV-NL63), 229E (HCoV 229E), OC43 (HCoV-OC43), and HKU1 (HCoV HKU1)]
  - *tube-3* : [parainfluenzavirus humain 2, 3, 4 (HPIV-2, 3 et 4) et contrôle interne (IC)]
  - *tube-4* : [parainfluenzavirus humain 1 (HPIV-1) , *Mycoplasma pneumoniae*, bocavirus humain (HBoV), metapneumovirus humain (HMPV A/B)]
  - *tube-5* : [Virus Respiratoire Syncytial A et B (RSVA/B), adenovirus humain (HAdV), entérovirus (EV) et parechovirus humain (HPeV)]
- Tests de PCR nichées avec **le Biofire FilmArray Respiratory Panel 2 plus (RP2+)** (Biomérieux, Marcy-l'Etoile, France) qui détecte 23 pathogènes simultanément : 19 virus (HAdV, HCoV-HKU1, HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43, MERS-Coronavirus, HMPV, HRV/EV, virus de la grippe A et ses sous types A/H1, A/H1-2009, A/H3, virus de la grippe B, HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3 et HPIV-4, RSV et SARS-CoV-2) et 4 bactéries (*Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussi*, *Chlamydia*

*pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*). Ces tests PCR sont réalisés au laboratoire Point-of-Care (POC) au sein de l'IHU Méditerranée Infection et de l'hôpital nord par des internes en biologie médicale 24h sur 24h et 7 jours sur 7 [54].

- Tests de RT-PCR temps réel pour détecter simultanément les virus de la grippe A, de la grippe B et le RSV par la technique **GeneXpert** (Cepheid, Sunnyvale, Californie, USA)

Nous avons défini une co-infection virale par la détection concomitante du SARS-CoV-2 avec un autre virus respiratoire dans un délai de 7 jours.

## C- RESULTATS

Entre le 1<sup>er</sup> mars 2020 et le 30 avril 2020 nous avons testé 4797 patients en RT-PCR pour le SARS-CoV-2 et parmi eux, 4222 (88%) ont bénéficié en plus d'un diagnostic syndromique. 643 patients ont été positifs pour le SARS-CoV-2 (15,2%), 1095 patients ont été diagnostiqués avec au moins un virus respiratoires autre que le SARS-CoV-2 (25,9%) et **27 patients ont été co-infectés SARS-CoV-2 / autre virus respiratoire** (4,2% des patients SARS-CoV-2 positifs et 0,6% des patients totaux).

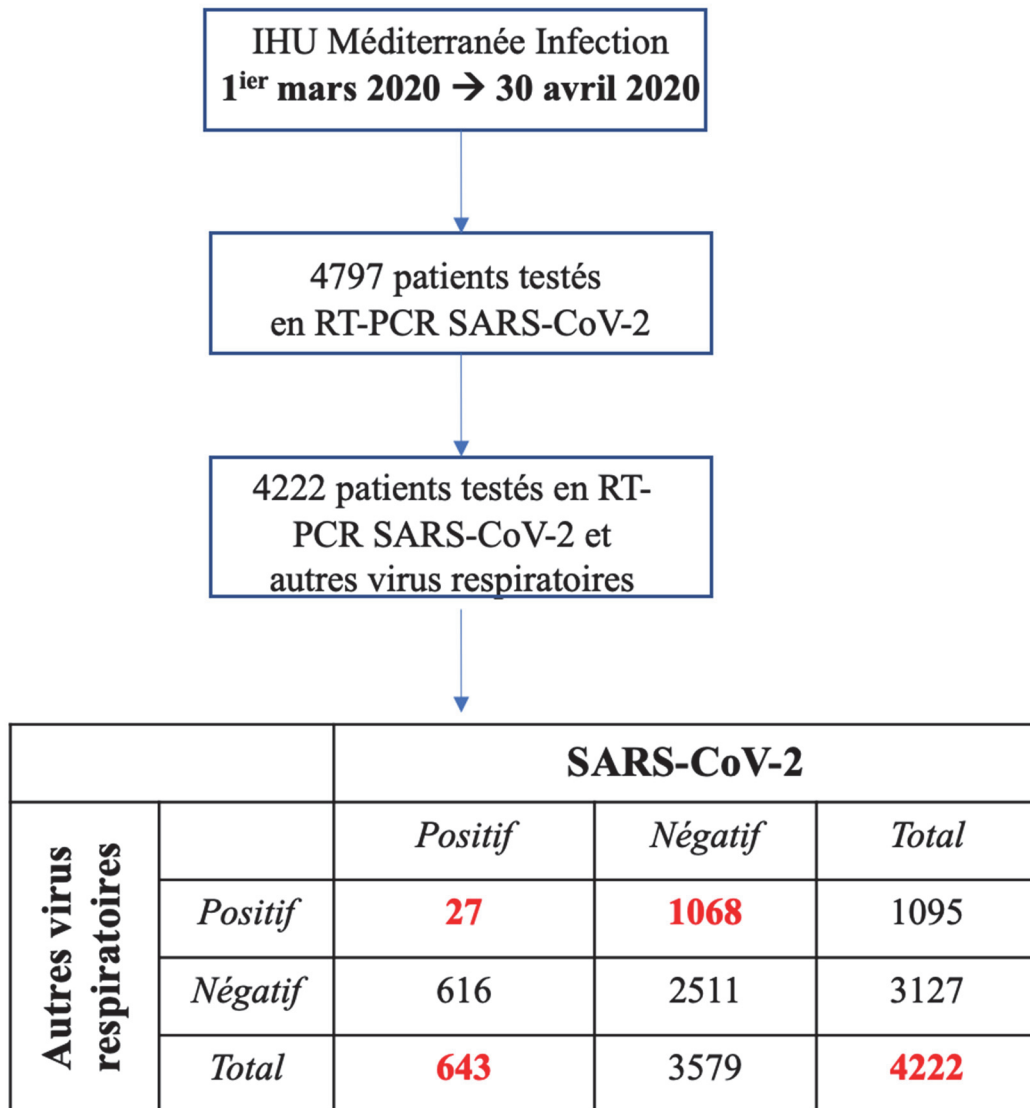


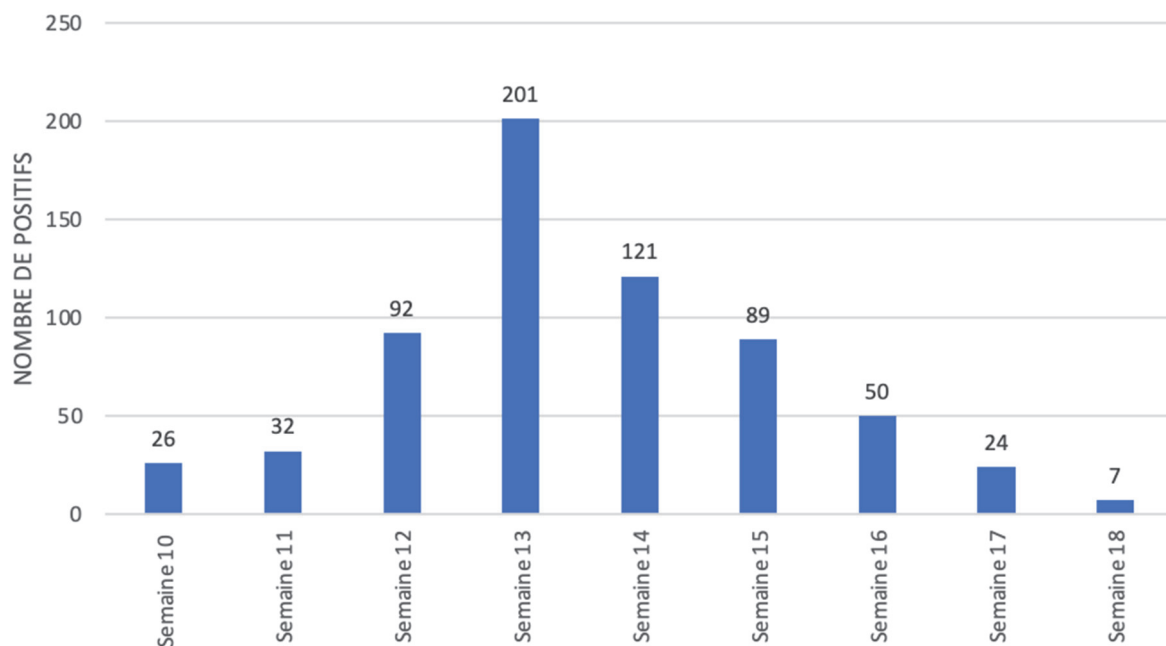
Figure 11 : Schéma de l'étude réalisée entre le 1<sup>er</sup> mars 2020 et le 30 avril 2020

## 1- Épidémiologie des patients non co-infectés

### a) *Patients SARS-CoV-2 positifs*

Pendant les deux mois de la période de l'étude, il y a eu 643 patients positifs pour le SARS-CoV-2 (15,2%). Le sex ratio était de 1,37 (372 hommes (57,8%) pour 271 femmes (42,2%)). Dans notre cohorte, les patients positifs pour le SARS-CoV-2 étaient significativement plus susceptibles d'être des hommes et d'être plus âgés (âge moyen  $\pm$  écart type :  $61,3 \pm 20,1$  ans) par rapport aux patients infectés par des virus autres que le SARS-CoV-2 (49,8% d'homme avec un âge moyen de  $29,2 \pm 27,6$  ans) ( $p=0,0013$ ).

La circulation du SARS-CoV-2 pendant la période de l'étude a été faible entre le 1<sup>er</sup> mars et le 18 mars avec seulement 85 cas contre 558 cas sur le reste de la période.



**Figure 12 : Répartition temporelle des SARS-CoV-2 positifs**



**b) Patients positifs pour au moins un autre virus que le SARS-CoV-2**

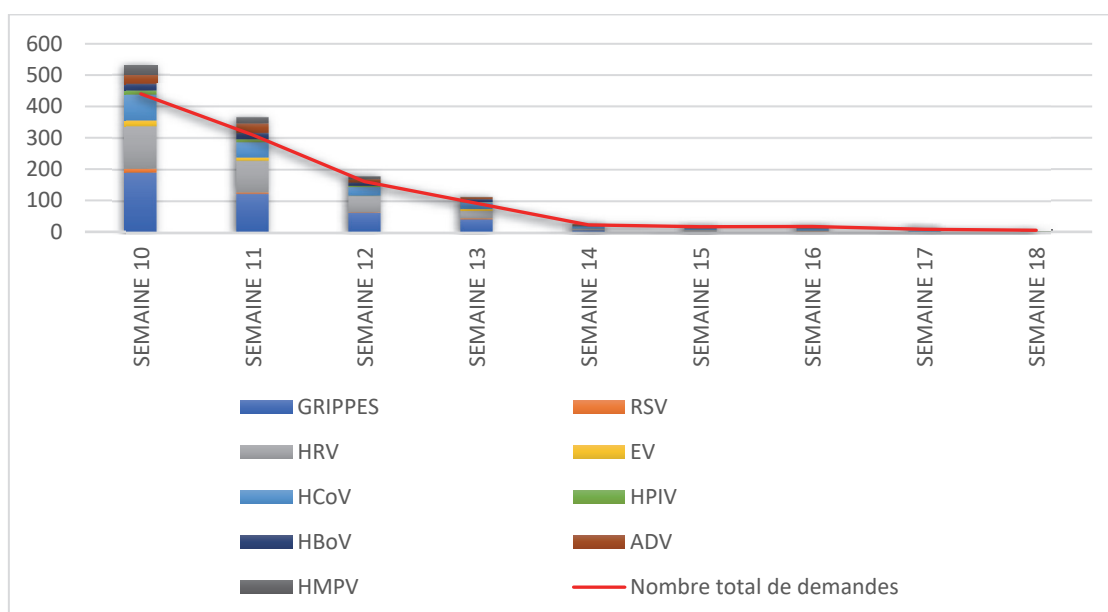
Nous avons aussi comptabilisé 1068 patients positifs pour au moins un virus respiratoire autre que le SARS-CoV-2 sur la période étudiée (25,3%). Le sex ratio était de 0,99 (532 hommes (49,8%) pour 536 femmes (50,2%).

La moyenne d'âge des femmes était de  $30,5 \pm 27,8$  ans et celle des hommes et de  $29,2 \pm 27,6$  ans.

Voici la répartition du nombre de cas positifs en fonction de la période de l'étude et du nombre total de demandes.

	InfluenzaV	RSV	HRV	EV	HCoV	HPIV	HBoV	HAdV	HMPV	Nombre total de demandes
SEMAINE 10	191	12	134	18	82	13	21	30	30	440
SEMAINE 11	124	4	100	10	49	9	20	30	20	309
SEMAINE 12	64	1	51	1	28	4	10	11	9	160
SEMAINE 13	43	3	23	7	21	1	9	6	1	91
SEMAINE 14	8	0	6	0	6	1	3	4	0	22
SEMAINE 15	4	0	6	0	4	0	1	2	1	16
SEMAINE 16	5	1	2	0	6	0	1	1	2	17
SEMAINE 17	1	1	2	0	3	0	0	0	0	8
SEMAINE 18	3	0	0	0	1	1	0	0	1	5

**Tableau 1 : Répartition du nombre de cas positifs en fonction du nombre total de demandes**



**Figure 13 : Répartition temporelle du nombre de virus respiratoires diagnostiqués en fonction du nombre total de prélèvements testés (demandes)**

Nous avons détecté un taux élevé (45%) de co-infections chez les patients SARS-CoV-2-négatifs (481 / 1068) ; en voici la répartition :

	Grippe A	Grippe B	HPIV-1	HPIV-2	HPIV-3	HPIV-4	HCoV-229E	HCoV-OC43	HCoV-NL63	HCoV-	RSV	HBoV	HAdV	HMPV	HRH	EV	Total
Grippe A	2	0	0	0	1	2	6	1	3	1	6	4	0	11	0	39	
Grippe B	2	0	0	0	0	2	2	3	6	0	8	6	1	16	1	49	
HPIV-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
HPIV-2	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	6	
HPIV-3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
HPIV-4	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	5	
HCoV-229E	2	2	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	3	0	11	
HCoV-OC43	6	2	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	8	0	22	
HCoV-NL63	1	3	0	0	0	0	0	0	5	0	0	3	1	4	0	17	
HCoV-HKU1	3	6	0	0	0	0	0	0	5	0	1	1	0	4	0	22	
RSV	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	4	2	10	
HBoV	6	8	0	0	0	1	2	0	1	2	0	14	3	15	2	56	
HAdV	4	6	0	0	0	0	0	3	1	0	14	0	2	19	0	50	
HMPV	0	1	0	2	0	0	0	1	0	1	3	2	0	11	2	24	
HRH	11	16	0	1	0	1	3	8	4	4	4	15	19	11	26	134	
EV	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	2	26	0	35	
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>49</b>	<b>0</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>11</b>	<b>22</b>	<b>17</b>	<b>22</b>	<b>10</b>	<b>56</b>	<b>50</b>	<b>24</b>	<b>134</b>	<b>35</b>	<b>481</b>

**Figure 14 : Répartition des co-infections dans la cohorte des patients SARS-CoV-2 négatifs**

Les taux de co-infections les plus élevés ont été observés avec les HRV (27,8%), les virus de la grippe A et B (18,2%), et les HBoV (11,6%).

## 2- Épidémiologie des patients co-infectés

Voici la répartition des co-infections SARS-CoV-2 / autres virus respiratoires chez les 27 patients co-infectés :

<b>Rhinovirus</b>	11(40,7%)
<b>Coronavirus humains saisonniers</b>	2 (7,4%)
OC43	2 (7,4%)
HKU1	1 (3,7%)
<b>Virus de la Grippe</b>	
A	2 (7,4%)
B	2 (7,4%)
<b>Parainfluenza virus</b>	
2	1 (3,7%)
4	2 (7,4%)
<b>Entérovirus</b>	2 (7,4%)
<b>Bocavirus</b>	2 (7,4%)
<b>Adenovirus</b>	1 (3,7%)
<b>Métapneumovirus</b>	1 (3,7%)

**Tableau 2 : Répartition des co-infections chez les patients SARS-CoV-2 positifs**

Le taux de co-infection pour les patients SARS-CoV-2 positif était de 4,2%.

Nous n'avons observé aucune co-infection entre le SARS-CoV-2 et les HPIV-1, les HPIV-3, les HCoV-NL63 et les RSV.

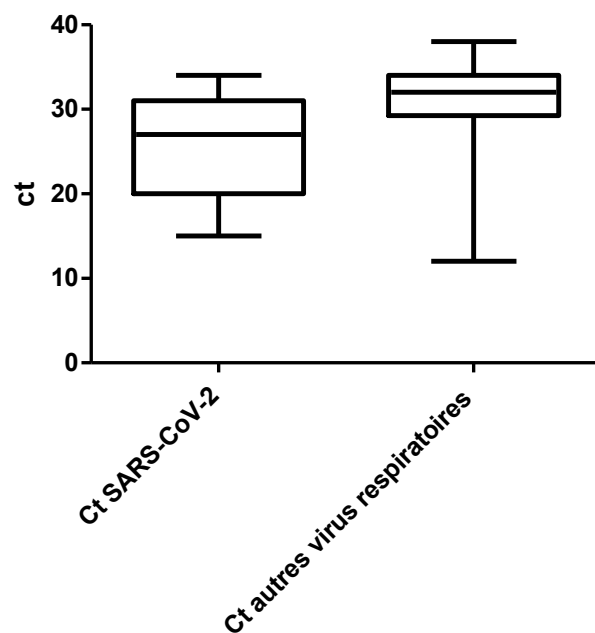
Le sex ratio des 27 patients était de 0,93 : 13 hommes (48,1%) pour 14 femmes (51,8%).

La moyenne d'âge pour les 27 patients était de 59,6 ans ( $\pm 23,8$  ans, min : 1 an – max : 89 ans).

La moyenne d'âge chez les 14 femmes était de 55,9 ans ( $\pm 24,22$  ans, min : 19 ans – max : 89 ans) et chez les 13 hommes de 63,54 ans ( $\pm 23,8$  ans, min : 1 an – max 88 ans).

Trois patients ont été perdus de vue durant la période étudiée (2 patients co-infectés HRV / SARS-CoV-2 et 1 patient co-infecté HCoV-HKU1 / SARS-CoV-2).

On note une différence significative entre les valeurs de Ct des RT-PCR au diagnostic des patients co-infectés : les Ct des RT-PCR SARS-CoV-2 étaient inférieurs comparés à ceux des autres virus respiratoires (respectivement en moyenne  $25.6 \pm 5.6$  vs  $30.7 \pm 5.4$ ,  $p = 0.0009$ ).



**Figure 15 : Comparaison chez les 27 patients co-infectés des Ct des qPCR ciblant le SARS-CoV-2 et les autres virus respiratoires au moment du diagnostic**

Les caractéristiques cliniques des 27 patients co-infectés sont regroupées dans le tableau suivant :

	HRV/EV (N = 11)	HCoV (N = 5)	InfluenzaV (N = 4)	HPIV (N = 3)	HBoV (N = 2)	HAdV (N = 1)	HMPV (N = 1)	Total (N, %)
<b><i>Clinique</i></b>								
Asthénie	8	5	4	1	1	1	1	21 (78%)
Céphalées	4	4	2	0	0	0	1	11 (41%)
Toux	8	1	2	1	1	1	1	15 (56%)
Dyspnée	5	1	1	0	0	1	1	9 (33%)
Agueusie *	1	0	0	0	0	0	0	1 (4%)
Anosmie *	1	0	0	0	0	0	0	1 (4%)
Diarrhées	2	0	2	0	1	0	0	5 (19%)
<b><i>Paraclinique : Stade atteinte pulmonaire (Scanner Thoraco Abdomino Pelvien)</i></b>								
Pas d'atteinte	3	0	1	0	0	0	0	4 (15%)
Mineure	1	1	0	2	0	0	0	4 (15%)
Intermédiaire	3	0	0	0	1	0	0	4 (15%)
Sévère	1	0	2	1	0	0	0	4 (15%)
Non réalisé	3	4	1	0	1	1	1	11 (41%)

**Tableau 3 : Caractéristiques cliniques des 27 patients co-infectés SARS-CoV-2 / autres virus respiratoires**

\*Probable biais de sélection car non demandé en systématique à l'interrogatoire clinique au début de la pandémie.

11 patients ont été hospitalisés à l'IHU et un patient était en réanimation.

Une patiente est décédée au cours de la période étudiée : il s'agissait d'une femme de 68 ans co-infectée par le SARS-CoV-2 et le métapneumovirus. On note parmi ses antécédents un asthme avec une insuffisance respiratoire nécessitant 2 litres d'oxygène nocturne depuis 10 ans.

## **D- DISCUSSION**

Nos résultats (impliquant l'une des plus grandes cohortes de patients à notre connaissance) montrent que des co-infections sont possibles entre le SARS-CoV-2 et d'autres virus respiratoires, mais qu'elles nécessitent une coïncidence de leurs périodes épidémiques. Le taux de 4,2% dans l'étude est plus élevé que certains taux retrouvés dans la littérature [46,55] mais aussi plus faible que ceux d'autres études [49].

Les premiers cas de SARS-CoV-2 en France sont apparus en Janvier 2020 et nous avons détecté notre premier cas à l'IHU Méditerranée Infection le 27 février 2020. L'épidémie de SARS-CoV-2 est alors survenue à une période durant laquelle la circulation des autres virus respiratoires était élevée et notamment au moment du pic saisonnier des infections par les virus de la grippe ou par le RSV.

Nous pouvons ainsi observer que la circulation des virus respiratoires (hors SARS-CoV-2) pendant cette période a été élevée jusqu'à mi-mars. En effet nous avons comptabilisé quasiment 90% (938 cas) des cas de viroses respiratoires entre le 1<sup>er</sup> mars et le 18 mars. Le nombre de cas a ensuite considérablement diminué avec uniquement 57 cas en avril 2020. Le nombre d'infections par des virus respiratoires non-SARS-CoV-2 a donc diminué de 17,7 fois (passant de 1011 à 57) entre mars et avril, et le nombre de co-infections par le SARS-CoV-2 et d'autres virus respiratoires a par conséquent diminué de 3,5 fois (de 21 à 6) entre ces 2 mois. Une étude suisse a retrouvé dans les mêmes proportions que nous une importante circulation des virus respiratoires avant l'arrivée du SARS-CoV-2 durant les semaines 12-13 de l'année 2020 [56].

Le taux de co-infection virale chez les patients SARS-CoV-2 positif a été plus faible que celui chez les patients SARS-CoV-2 négatif (4,2% versus 45%,  $p < 0,0001$ ). Cette tendance est similaire à celle de l'étude de Singh et al [57] (4% de co-infections virales chez les patients SARS-CoV-2 positifs et 9% chez les patients SARS-CoV-2 négatifs ( $p < 0,05$ )).

Nous avons observé 4 cas de co-infections avec le virus de la grippe (2 gripes A et 2 gripes B) car la période de notre étude se situe au moment de la phase finale de l'épidémie pour l'année 2020 (même si la surveillance s'est arrêtée mi-mars à cause du confinement rentré en vigueur en France le 17 mars 2020) <https://www.vie-publique.fr/en-bref/276800-grippe-de-lhiver-2019-2020>). Dans la littérature de nombreux cas ont été rapportés pour cette co-infection et une récente méta-analyse [58] indique que sur 26 études incluses, la prévalence de cette co-infection a été globalement de 1,2%. Un rapport chinois [59] a signalé que cette co-infection SARS-CoV-2 / virus grippal était fréquente au début de l'épidémie à Wuhan et Bai et al [60] ont décrit à travers de modèles expérimentaux animaux qu'une infection préalable par le virus de la grippe A favoriserait une infection par le SARS-CoV-2.

Fait intéressant, nous n'avons détecté que 2 infections par un virus de la grippe au cours de l'hiver 2021 durant lequel l'incidence des infections par le SARS-CoV-2 est resté élevée.

Dans les deux cohortes (patients co-infectés SARS-CoV-2/autres virus respiratoires et patients positifs pour un autre virus autre que le SARS-CoV-2), les taux de co-infections les plus élevés étaient avec les HRV du fait d'une circulation importante durant la période de l'étude et durant toute l'année de manière plus générale. A l'IHU méditerranée Infection depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2015 jusqu'à septembre 2020 nous avons comptabilisé 12,5% de HRV positifs avec une circulation tout au long de l'année et avec des pics à partir du mois d'octobre jusqu'au mois de mars-avril pour chaque année. Une étude danoise a d'ailleurs décrit que la circulation des HRV sur une période de cinq ans était similaire à la nôtre avec des pics à l'automne et une régression en début d'été [61].

Nous n'avons détecté aucune co-infection avec le RSV alors que dans certaines études les taux de co-infection atteignent 4,8% [62]. Ceci est sûrement dû à la faible circulation du virus pendant la période d'étude (2% des virus respiratoires diagnostiqués). Pour le RSV, la saisonnalité est surtout hivernale : elle commence le plus souvent entre octobre-novembre avec un pic en décembre puis le nombre de cas diminue à partir de février-mars [63].

De plus, le RSV est connu pour infecter surtout les enfants (à l'âge de 1 an, 60% à 70% ont déjà été infectés par ce virus [64]) et les personnes âgées [65]. Il est associé à d'autres virus respiratoires mais ceci a surtout été décrit dans des cohortes pédiatriques [66]

En ce qui concerne les HBoV, nous avons observé un taux plus élevé de co-infections chez les personnes SARS-CoV-2 négatif comparé aux patients SARS-CoV-2 positif (respectivement 11,6% versus 7,2%). Le HBoV est un virus respiratoire souvent retrouvé en association avec d'autres virus et notamment les HRV, les HAdV ou les virus de la grippe avec des taux de co-infection pouvant atteindre 50% [67]. Lorsqu'il est retrouvé en association avec un autre virus respiratoire, il n'y a pas de différence significative cliniquement parlant [68].

Pour les HPIV, nous avons observé des co-infections avec les sérotypes 2 et 4. Ceci est sûrement dû à leur saisonnalité avec des pics en automne/hiver essentiellement, contrairement au HPIV-3 qui commencent à circuler à partir de mai - juin [69,70].

Au total l'incidence des co-infections par le SARS-CoV-2 et d'autres virus respiratoires s'est avérée dépendante de la co-incidence des différents virus respiratoires. Ceci explique certainement en grande partie les différences importantes de l'incidence des co-infections observée selon les études quand elles ont été réalisées à des périodes différentes et/ou dans des pays différents, à des périodes durant lesquelles l'incidence des infections par les autres virus

respiratoires que le SARS-CoV-2 étaient variables. Nous avons observé ceci dans notre étude entre les mois de mars et avril, avec une réduction importante de la circulation des infections par les autres virus respiratoires que le SARS-CoV-2.

Dans notre étude, une patiente co-infectée SARS-CoV-2/HMPV est décédée et un autre a été hospitalisé en service de réanimation. Les résultats de certaines études sur la gravité des co-infections sont contradictoires. Dans une première étude française [71] sur 92 patients admis en réanimation, 49% sont décédés et 28% d'entre eux étaient co-infectés par une bactérie (*S. aureus* ; *H. influenzae* et *S. pneumoniae* essentiellement). En revanche, aucun patient décédé n'était co-infecté par un autre virus respiratoire. Une méta-analyse [72] semble tirer les mêmes conclusions : les détections concomitantes de virus respiratoires et du SARS-CoV-2 n'étaient pas associées à plus d'admission en réanimation comparées à ce qui était observé chez les patients mono-infectés SARS-CoV-2. Ces études sont en contradiction avec plusieurs autres études. Notamment, dans celle de Stowe et al [73], 43% des patients co-infectés SARS-CoV-2 / virus grippal sont décédés contre 27% des patients mono-infectés par le SARS-CoV-2. Les patients co-infectés étaient deux fois plus à risque de ventilation mécanique ou d'être admis en réanimation. Une autre étude d'Alosaimi et al [74] a décrit que sur 48 patients co-infectés, les 14 patients qui ont été admis en réanimation avaient statistiquement plus d'infections virales que bactériennes (6 par le virus grippal H1N1, 3 par HAdV, 2 par des bactéries).

Notre étude comporte certaines limites. La période étudiée était courte (2 mois) et la chance de détecter des co-infections entre le SARS-CoV-2 et un autre virus respiratoire était mince. De plus, nous nous intéressons qu'à une seule région de France, et nos conclusions ne s'appliquent ainsi peut-être pas dans d'autres zones géographiques.



La majorité des co-infections est survenue chez des adultes : nous n'avons eu qu'une seule co-infection chez un enfant de 1 an (SARS-CoV-2 / HRV). Il s'agissait d'un enfant prématuré né à 26 semaines d'aménorrhées nécessitant depuis sa naissance une oxygénothérapie persistante dans le cadre d'une dysplasie broncho-pulmonaire.

Or, les co-infections (surtout virales) sont très fréquentes chez les enfants. L'étude de Mandelia et al [75] a comparé les taux de co-infections entre les adultes et les enfants (5,8% 35%) et parmi les plus fréquentes ont été retrouvées celles impliquant HRV et RSV.

A l'IHU, nous avons réalisé une étude sur la proportion d'enfants infectés par le SARS-CoV-2 entre le 27 février et le 14 mars 2020 [76]. Parmi 228 patients SARS-CoV-2 positifs sur 4766 (5.6%) nous avons comptabilisé 4% (10/228) et 8% (17/228) d'enfants respectivement de moins de 10 et 15 ans. De plus, la charge virale ne différait pas significativement entre les enfants de moins de 10 ans, les adolescents entre 10-18 ans et les adultes ( $24.9 \pm 4.3$  ;  $26.0 \pm 4.9$  et  $24.8 \pm 4.6$  respectivement). Enfin, sur 9 enfants chez qui nous avons pu recueillir des informations cliniques, 6 étaient asymptomatiques.

Une méta-analyse [77] réalisée sur 41,640 enfants de moins de 20 ans et 268,945 adultes semble d'ailleurs confirmer cette tendance : les enfants auraient une sensibilité diminuée au SARS-CoV-2 comparativement aux adultes.

En ce qui concerne les co-infections SARS-CoV-2 et autres virus respiratoires dans les cohortes pédiatriques, Li et al [78] ont retrouvé un taux de 7% (versus 25% avec le *M. pneumoniae*).

L'équipe de Karaaslan et al [79] a montré que sur 93 enfants positifs pour le SARS-CoV-2, 6 avaient des co-infections avec d'autres virus respiratoires (6.4%): 2 avec HRV, 2 avec HCoV-NL63, 1 avec HAdV et un patient avec HRV/HAdV. Une équipe italienne [80] a révélé que les enfants co-infectés SARS-CoV-2/autres virus respiratoires étaient plus susceptibles d'être admis en réanimation.

L'une des autres limites de notre étude est qu'elle a été réalisée au début de la pandémie et a impliqué des virus génétiquement proches de la souche Wuhan-Hu-1 d'origine. Depuis, sont apparus de nombreux variants SARS-CoV-2 dans le monde et en France, et nous avons observé une prédominance à partir de l'été 2020 du variant Marseille-4 (20A.EU2 (Nextstrain clade (<https://clades.nextstrain.org/>)) ou B.1.160 (Pangolin classification (<https://cov-lineages.org/resources/pangolin.html>)) jusqu'en février 2021, suivi du variant alpha (Pangolin lineage B.1.1.7) de février à juin 2021 et enfin plus récemment depuis le mois de juillet 2021 du variant delta (Pangolin lineage B.1.617.2).

Cette évolution de l'épidémie est à l'origine de changements dans les présentations cliniques. Par exemple, le variant Marseille-4 est plus fréquemment associé à des hypoxies et les patients infectés présentent plus de fièvre qu'avec les variants 20A ou Marseille-1 et ont plus de risque d'être hospitalisés [81,82].

Enfin, l'arrivée du SARS-CoV-2 a modifié la saisonnalité et l'épidémiologie des autres virus respiratoires. En effet, à l'IHU Méditerranée Infection, nous n'avons diagnostiqué que 2 cas de grippe durant l'hiver 2020-2021 et le RSV est apparu en décalé comparé aux années précédentes (avec un retard de 4 mois). Cette même observation avait été rapporté lors de l'épidémie de grippe H1N1 en 2009 avec un décalage temporel de l'apparition du RSV l'année suivante [83]. Les HRV, eux, ont continué de circuler sur toute la période, semblant peu impactés par les mesures barrière prises sur l'ensemble de la planète. Ces observation ont d'ailleurs aussi été rapportées dans d'autres pays et dans des études préliminaires [84–87].

Plusieurs hypothèses peuvent alors être émises sur le peu de co-infections virales rapportées dans la littérature. D'abord ceci peut être expliqué par les mesures barrières rentrées en vigueur avec le confinement national le 17 mars 2020 et dans d'autres pays. Il se peut aussi qu'il y a une « interférence virale » : soit le SARS-CoV-2 réduirait la réplication de la plupart des autres

virus respiratoires, soit la réplication SARS-CoV-2 serait réduite par la présence d'autres virus respiratoires.

Une équipe anglaise [88] a étudié à l'aide de modèles cellulaires la cinétique de réplication du SARS-CoV-2 en présence de HRV sur des cellules épithéliales bronchiques (HBECs) obtenues grâce à la technique de culture interface air-liquide (ALI). Afin de reproduire au mieux la réalité, ils ont d'abord inoculé le SARS-CoV-2 puis 24h après le HRV et vice versa. Dans les deux cas, la cinétique du SARS-CoV-2 a été modifiée. Pour la première condition, ils ont observé une forte croissance du SARS-CoV-2 entre 24h et 48h post-infection virale puis une forte diminution entre 48h et 96h. Pour la deuxième condition, la réplication du SARS-CoV-2 n'a pas conduit à une augmentation de la charge virale par rapport à l'inoculum initial et les charges virales ont rapidement diminué en 24h. Cette réduction rapide de la charge virale du SARS-CoV-2 pourrait être liée à une interaction indirecte négative avec le HRV qui déclencherait une réponse interféron rendant la plupart des cellules non permissives au SARS-CoV-2. Des modèles mathématiques établissent le même lien suggérant que la réplication du SARS-CoV-2 serait réduite par les autres virus respiratoires [89,90].

a) *Publication 1 : Co-infections with SARS-CoV-2 and other respiratory viruses in Southeastern France : A matter of sampling time – J Med Virol 2020*

DOI: 10.1002/jmv.26692

LETTER TO THE EDITOR

JOURNAL OF  
MEDICAL VIROLOGY WILEY

## Coinfections with SARS-CoV-2 and other respiratory viruses in Southeastern France: A matter of sampling time

To the Editor,

We read with interest the article by Nowak et al.<sup>1</sup> Coinfections with several respiratory viruses are common worldwide and can represent up to 42% of infections with non-SARS-CoV-2, endemic coronaviruses.<sup>2</sup> However, the relative risk of coinfections is mainly based on the coincidence of the seasonality of these viruses. Regarding SARS-CoV-2, its codetection with other respiratory viruses has been reported with frequencies that varied from less than 5%<sup>1,3-5</sup> to 27%.<sup>6</sup> Such variations could be explained partially by differences in the incidence of viral respiratory infections that varies considerably according to the study period, the geographical area, and the age group. The frequency of these coinfections and the viruses they involved deserve further studies at multiple regional scales as this can have consequences on the diagnosis strategies and the patients' clinical management.

At the University Hospital Institute Méditerranée Infection in Marseille, Southeastern France, we implemented the SARS-CoV-2 diagnosis by reverse-transcription polymerase chain reaction (PCR) since the end of January 2020.<sup>7</sup> Between March 1 and April 30, 2020, 38,633 patients from all four university hospitals of Marseille were tested by PCR for SARS-CoV-2 and 4,975 (12.9%) resulted positive (<https://www.mediterranee-infection.com/covid-19/>). During the same period of time, respiratory samples from 4,797 patients were tested for non-SARS-CoV-2 respiratory viruses and 28% of the patients ( $n = 1,358$ ) were positive for one or more tested viruses.

A total of 4,222 patients were tested during the 2-month period for SARS-CoV-2 and other respiratory viruses as well. Among them, 643 (15.2%) were diagnosed with SARS-CoV-2, 1,095 (25.9%) were diagnosed with one or more non-SARS-CoV-2 respiratory viruses, and 27 (0.6% of the 4,222 patients and 4.2% of those SARS-CoV-2-positive) were coinfecting with SARS-CoV-2 and another respiratory virus, mostly rhinoviruses ( $n = 11$ ), endemic coronaviruses ( $n = 5$ ), and influenza A or B viruses ( $n = 4$ ) (Table 1).

Interestingly, the circulation of SARS-CoV-2 was low until mid-March (85 cases between March 1 and March 18) and high from mid-March until mid-April (558 cases between March 19 and April 15) (Figure 1). Conversely, the circulation of other respiratory viruses was high until mid-March (938 cases between March 1 and March 18) and very low thereafter (130 cases, including 57 cases in April). The number of infections with non-SARS-CoV-2 respiratory viruses dropped by 17.7 times, from 1,011 to 57, between March and April, and the number of coinfections with SARS-CoV-2 and other respiratory viruses consequently decreased by 3.5 times, from 21 to 6, between these 2 months. Therefore, the chance to detect

coinfections with SARS-CoV-2 and another virus was small in Marseille during the period of the study.

The 27 patients infected with SARS-CoV-2 and another respiratory virus comprised 13 men (48.2%) and their mean age ( $\pm$ standard deviation) was  $59.6 \pm 23.8$  years. Similar characteristics were observed for patients studied by Nowak et al.<sup>1</sup> who reported 44% of men and a mean age of  $\approx 60$  years among SARS-CoV-2-positive patients positive for another respiratory virus. In our cohort, patients positive for SARS-CoV-2 were significantly more likely to be men (57.8%) and older (mean age of  $61.3 \pm 20.1$  years) compared to patients infected with viruses other than SARS-CoV-2 (49.8% male with a mean age of  $29.2 \pm 27.7$  years).

Our findings that involved the largest cohort of patients, to our knowledge, tested for SARS-CoV-2 and other respiratory viruses show that coinfections are possible, but their occurrence requires a coincidence of their epidemic periods. This justifies using a syndromic diagnostic strategy, primarily through the use of multiplex PCR assays, as we and others have implemented in clinical microbiology and virology laboratories.<sup>7-9</sup> Nonetheless, the frequency of coinfections, which make it difficult to estimate the clinical impact of each respiratory virus, largely depends on the rate of coincidence of these viruses. Since its emergence in December 2019, SARS-CoV-2 has shown different incidence patterns according to the geographical area and the time of sampling, and the overlap between its temporal distribution and that of other respiratory viruses, therefore, varied considerably. In the coming winter and spring seasons, it is a possibility that epidemics of common respiratory viruses, including influenza viruses, will overlap with epidemics of SARS-CoV-2, and accurate and timely diagnosis will be important. Currently, the outcome of the SARS-CoV-2 pandemic remains uncertain, but previous findings warrant adding the detection of this new virus in syndromic approaches on the assumption that this new coronavirus might circulate in the future in a seasonal manner like the other respiratory viruses, particularly like endemic human coronaviruses.

### ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by the French Government under the "Investments for the Future" program managed by the National Agency for Research (ANR), Méditerranée-Infection 10-IAHU-03, and was also supported by Région Provence-Alpes-Côte d'Azur and European funding FEDER PRIMMI (Fonds Européen de Développement Régional-Plateformes de Recherche et d'Innovation

**TABLE 1** Epidemiological and virological features of SARS-CoV-2-negative and -positive patients coinfecting with other respiratory viruses using the FTD Respiratory pathogens 21 (Fast Track Diagnosis, Luxembourg), the Biofire FilmArray Respiratory panel 2 plus (Biomérieux, Marcy-l'Etoile, France), the Respiratory Multi-Well System r-gene (Argene, BioMérieux), or the GeneXpert Xpert Flu/RSV (Cepheid, Sunnyvale, CA) assays

Epidemiological features and viruses	All patients (N = 1,711)	(1) SARS-CoV-2- negative but positive for another respiratory virus (N = 1,068)	(2) SARS- CoV-2 positive (N = 643)	(3) SARS- CoV-2- positive without coinfection (N = 616)	(4) SARS- CoV-2- positive with coinfection (N = 27)	<i>p</i> Value <sup>a</sup>	<i>p</i> Value <sup>b</sup>	<i>p</i> Value <sup>c</sup>
Age, mean ± standard deviation (years)	41.3 ± 29.5	29.2 ± 27.7	61.3 ± 20.1	61.4 ± 20.0	59.6 ± 23.8	<b>&lt;2 × 10<sup>-16</sup></b>	<b>&lt;2 × 10<sup>-16</sup></b>	.7103
Gender, <i>n</i> (%)								
Male	904 (52.8%)	532 (49.8%)	372 (57.8%)	359 (58.3%)	13 (48.2%)	<b>.001251</b>	<b>.003</b>	.2967
Female	807 (47.2%)	536 (50.2%)	271 (42.2%)	257 (41.7%)	14 (51.8%)			
Influenza viruses, <i>n</i> (%)								
Influenza A virus	212 (12.4%)	210 (19.7%)	2 (0.3%)	-	2 (7.4%)			
Influenza B virus	235 (13.7%)	233 (21.8%)	2 (0.3%)	-	2 (7.4%)			
Parainfluenza viruses, <i>n</i> (%)								
Parainfluenza virus 1	3 (0.2%)	3 (0.3%)	0 (0%)	-	0 (0%)			
Parainfluenza virus 2	9 (0.5%)	8 (0.8%)	1 (0.2%)	-	1 (3.7%)			
Parainfluenza virus 3	8 (0.5%)	8 (0.8%)	0 (0%)	-	0 (0%)			
Parainfluenza virus 4	12 (0.7%)	10 (0.9%)	2 (0.3%)	-	2 (7.4%)			
Human endemic coronaviruses, <i>n</i> (%)								
Coronavirus 229E	34 (2.0%)	33 (3.1%)	1 (0.2%)	-	1 (3.7%)			
Coronavirus OC43	44 (2.6%)	42 (3.9%)	2 (0.3%)	-	2 (7.4%)			
Coronavirus NL63	61 (3.6%)	61 (5.7%)	0 (0%)	-	0 (0%)			
Coronavirus HKU1	66 (3.9%)	64 (6.0%)	2 (0.3%)	-	2 (7.4%)			
Respiratory syncytial virus	22 (1.3%)	22 (2.1%)	0 (0%)	-	0 (0%)			
Bocavirus	67 (3.9%)	65 (6.1%)	2 (0.3%)	-	2 (7.4%)			
Adenovirus	85 (5.0%)	84 (7.9%)	1 (0.2%)	-	1 (3.7%)			
Metapneumovirus	65 (3.8%)	64 (6.0%)	1 (0.2%)	-	1 (3.7%)			
Rhinovirus	335 (19.6%)	324 (30.4%)	11 (1.7%)	-	11 (40.7%)			
Enterovirus	38 (2.2%)	36 (3.4%)	2 (0.3%)	-	2 (7%)			

Note:  $\chi^2$  or Fisher exact test were used to compare differences between proportions. Quantitative data means were compared using the one-way analysis of variance or Student's test. Significant *p* values are in bold font.

<sup>a</sup>Comparison of SARS-CoV-2-negative (1) versus SARS-CoV-2-positive (2).

<sup>b</sup>Comparison of SARS-CoV-2-negative (1) versus SARS-CoV-2 positive without coinfection (3) versus SARS-CoV-2 positive with co-infection (4).

<sup>c</sup>Comparison of SARS-CoV-2-positive without coinfection (3) versus SARS-CoV-2-positive with coinfection (4).

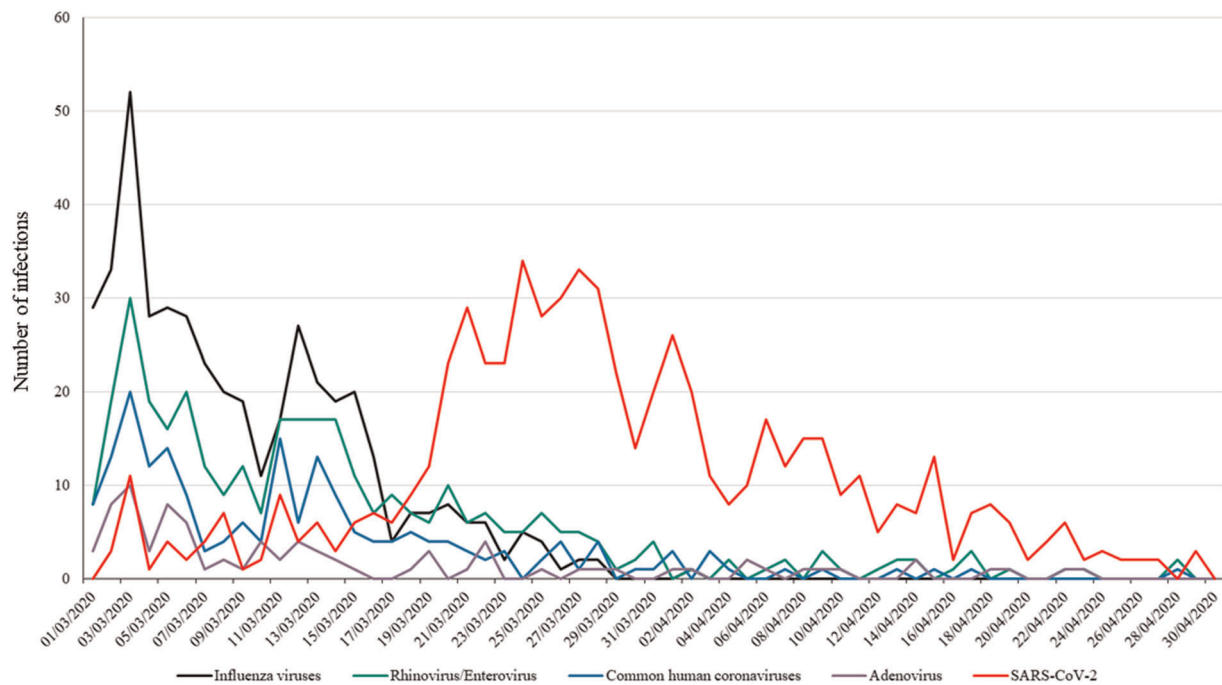
Mutualisées Méditerranée Infection), FEDER PA 0000320 PRIM-MI. Funding sources had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis, and interpretation of the data; and preparation, review, or approval of the manuscript.

#### CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare that there are no conflict of interests to declare.

#### AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceived and designed the experiments: Philippe Colson, Philippe Gautret, Bernard La Scola, Didier Raoult. Contributed materials/analysis tools: Céline Boschi, Van Thuan Hoang, Audrey Giraud-Gatineau, Laetitia Ninove, Jean-Christophe Lagier, Philippe Gautret, Philippe Colson. Analyzed the data: Céline Boschi, Van Thuan Hoang, Bernard La Scola, Philippe Gautret, Didier Raoult, Philippe Colson. Wrote the paper: Céline Boschi, Philippe Gautret, Didier Raoult, Philippe Colson. All authors approved the last version of the manuscript.



**FIGURE 1** Number of infections with SARS-CoV-2 and other respiratory viruses overtime. Black line, influenza viruses; green line, rhinovirus/enterovirus; blue line, common human coronaviruses; purple line, adenovirus; red line, SARS-CoV-2

#### ETHICS STATEMENT

All data have been generated as part of the routine work at Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille (Marseille university hospitals), and this study results from routine standard clinical management. The study was approved by the ethical committee of the University Hospital Institute Méditerranée Infection (No.: 2020-029). Access to the patients' biological and registry data issued from the hospital information system was approved by the data protection committee of Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille (APHM) and was recorded in the European General Data Protection Regulation registry under number RGPD/APHM 2019-73.

Céline Boschi<sup>1,2</sup>

Van Thuan Hoang<sup>2,3,4</sup>

Audrey Giraud-Gatineau<sup>2,3</sup>

Laetitia Ninove<sup>2</sup>

Jean-Christophe Lagier<sup>1,2</sup>

Bernard La Scola<sup>1,2</sup>

Philippe Gautret<sup>2,3</sup>

Didier Raoult<sup>1,2</sup>

Philippe Colson<sup>1,2</sup>

#### Correspondence

Philippe Colson, IHU Méditerranée Infection, 19-21 Boulevard

Jean Moulin, 13005 Marseille, France.

Email: [philippe.colson@univ-amu.fr](mailto:philippe.colson@univ-amu.fr)

#### ORCID

Van Thuan Hoang <http://orcid.org/0000-0003-1369-8615>

Philippe Gautret <https://orcid.org/0000-0002-1664-958X>

Philippe Colson <http://orcid.org/0000-0001-6285-0308>

#### REFERENCES

- Nowak MD, Sordillo EM, Gitman MR, Paniz Mondolfi AE. Co-infection in SARS-CoV-2 infected patients: Where are influenza virus and rhinovirus/enterovirus? *J Med Virol.* 2020;92:1699-1700. <https://doi.org/10.1002/jmv.25953>
- Gaunt ER, Hardie A, Claas EC, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol.* 2010;48:2940-2947.
- Wee LE, Ko KKK, Ho WQ, Kwek GTC, Tan TT, Wijaya L. Community-acquired viral respiratory infections amongst hospitalized inpatients during a COVID-19 outbreak in Singapore: co-infection and clinical outcomes. *J Clin Virol.* 2020;128:104436.
- Blasco ML, Buesa J, Colomina J, et al. Co-detection of respiratory pathogens in patients hospitalized with Coronavirus viral disease-2019 pneumonia. *J Med Virol.* 2020;92:1799-1801. <https://doi.org/10.1002/jmv.25922>
- Ding Q, Lu P, Fan Y, Xia Y, Liu M. The clinical characteristics of pneumonia patients coinfecting with 2019 novel coronavirus and influenza virus in Wuhan, China. *J Med Virol.* 2020;92:1549-1555. <https://doi.org/10.1002/jmv.25781>
- Kim D, Quinn J, Pinsky B, Shah NH, Brown I. Rates of co-infection between SARS-CoV-2 and other respiratory pathogens. *JAMA.* 2020; 323:2085-2086.

<sup>1</sup>Aix-Marseille Université, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille (AP-HM), Microbes Evolution Phylogeny and Infections (MEPHI), Marseille, France

<sup>2</sup>IHU Méditerranée Infection, Marseille, France

<sup>3</sup>Aix-Marseille Université, Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille (AP-HM), SSA, Vecteurs - Infections Tropicales et Méditerranéennes (VITROME), Marseille, France

<sup>4</sup>Thai Binh University of Medicine and Pharmacy, Thai Binh, Vietnam

7. Amrane S, Tissot-Dupont H, Doudier B, et al. Rapid viral diagnosis and ambulatory management of suspected COVID-19 cases presenting at the infectious diseases referral hospital in Marseille, France—January 31st to March 1st, 2020: a respiratory virus snapshot. *Travel Med Infect Dis.* 2020;36: 101632.
8. Drancourt M, Michel-Lepage A, Boyer S, Raoult D. The point-of-care laboratory in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2016;29: 429-447.
9. Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R. Syndromic panel-based testing in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2017; 31:e00024-17.

e) **Publication 2 : Children account for a small proportion of diagnoses of SARS-CoV-2 infection and do not exhibit greater viral loads than adults - Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2020**

European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (2020) 39:1983–1987  
https://doi.org/10.1007/s10096-020-03900-0

BRIEF REPORT

## Children account for a small proportion of diagnoses of SARS-CoV-2 infection and do not exhibit greater viral loads than adults

Philippe Colson<sup>1,2</sup> · Hervé Tissot-Dupont<sup>1,2</sup> · Aurélie Morand<sup>1,3</sup> · Céline Boschi<sup>1,2</sup> · Laetitia Ninove<sup>1</sup> · Vera Esteves-Vieira<sup>1</sup> · Philippe Gautret<sup>1,2</sup> · Philippe Brouqui<sup>1,2</sup> · Philippe Parola<sup>1,4</sup> · Jean-Christophe Lagier<sup>1,2</sup> · Christine Zandotti<sup>1</sup> · Matthieu Million<sup>1,2</sup> · Bernard La Scola<sup>1,2</sup> · Didier Raoult<sup>1,2</sup>

Received: 24 March 2020 / Accepted: 7 April 2020 / Published online: 26 August 2020  
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2020

### Abstract

Previous reports have suggested that children are less affected than adults by SARS-CoV-2. We analyzed SARS-CoV-2 diagnoses between February 27, 2020, and March 14, 2020, and mortality among positive patients in Marseille university hospitals. Of 4050 tested individuals, 228 were positive. Deaths occurred in 2/99 documented cases (both > 85 year-old). Children were majorly asymptomatic. Incidence increased by 7.4-fold between 1–5 and 45–65 years then decreased. It was significantly lower among 0–1 year- (0%) and 1–5 (1.1%) and 5–10 (3.6%)-year-old children than among subjects > 18 years (6.5%). Viral loads did not differ between children and adults. Children may not contribute significantly to virus circulation.

**Keywords** SARS-CoV-2 · Covid-19 · Children · Transmission · Viral load

A new coronavirus, named SARS-CoV-2, has emerged in humans since December 2019 in the region of Wuhan in China [1]. In France, the first case was diagnosed on January 24, 2020, and on March 14, 2020, the number of confirmed cases was 3661, and the number of deaths was 79 [2]. As was the case previously in a dozen countries, the decision was made on March 12, 2020, to close schools, and universities, in order to limit the transmission of SARS-CoV-2 across the French population.

Among parameters associated with infectivity of respiratory viral infections are duration of viral shedding and viral load that are positively correlated with the transmission risk. In the case of influenza virus infections, children are considered important drivers of transmission of the virus in the community and were described as more infectious than adults [3, 4]. In contrast, reports available from China have suggested that children are less affected than adults by the SARS-CoV-2 [5, 6]. No study has focused on SARS-CoV-2 among children in France. We describe here the number of infections and viral load in children comparatively to those in adults for cases tested in our French institution.

Viral RNA was extracted from nasopharyngeal secretions collected with Virocult swabs (Medical Wire and Equipment Company, Corsham, Wilts, England) using the EZ1 Virus Mini Kit v2.0 on the EZ1 instrument (Qiagen, Courtaboeuf, France) or the QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Courtaboeuf, France) on the QIAcube automated nucleic acid purifier (Qiagen). Then, SARS-CoV-2 RNA was assessed by a real-time reverse transcription (RT)-PCR system targeting the envelope protein (E)-encoding gene with the LightCycler Multiplex RNA Virus Master kit on a LightCycler 480 instrument (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), as previously described [7, 8]. Estimated detection threshold was 200 copies/mL. An internal control phage was used to ensure RNA extraction and PCR accuracies [7, 8]. Ten

✉ Didier Raoult  
didier.raoult@gmail.com

<sup>1</sup> IHU Méditerranée Infection, 19-21 boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France

<sup>2</sup> Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille (AP-HM), Microbes Evolution Phylogeny and Infections (MEPHI), Aix-Marseille University, 27 boulevard Jean Moulin, 13005 Marseille, France

<sup>3</sup> Pédiatrie spécialisée et médecine infantile, AP-HM, Hôpital de la Timone, Marseille, France

<sup>4</sup> Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Assistance Publique - Hôpitaux de Marseille (AP-HM), Service de Santé des Armées (SSA), Vecteurs - Infections Tropicales et Méditerranéennes (VITROME), Aix Marseille University, Marseille, France



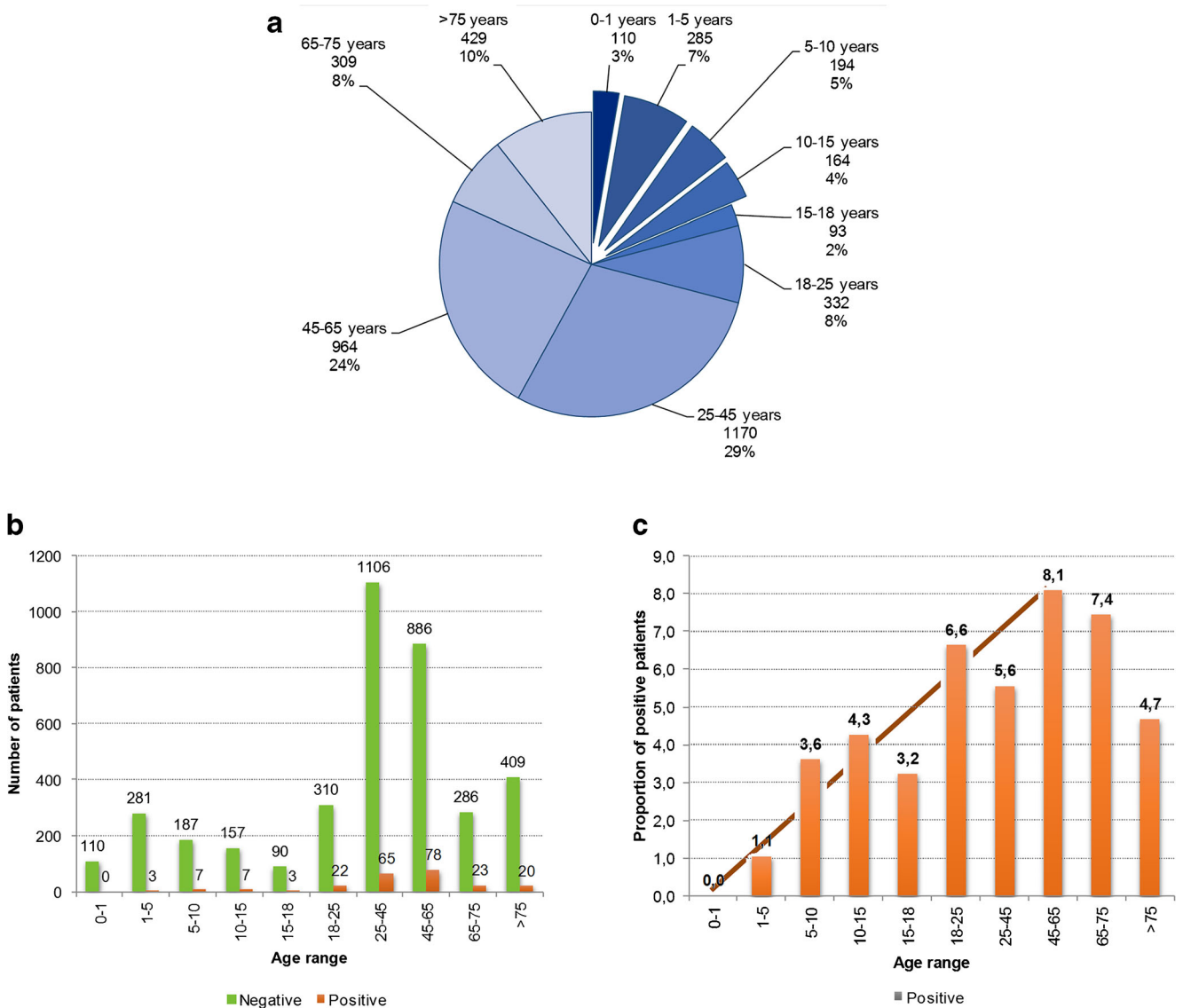
swabs were weighed before and after collection of nasopharyngeal secretions to be able reporting the number of RNA copies/g of secretions. Mean weight was  $220 \pm 35$  mg. Copy number was calculated using a positive control synthetic RNA corresponding to the PCR target region. Then, this number was multiplied by 23 as volume used for viral RNA extraction was 200  $\mu$ L and total volume of swab fluid was 1 mL (factor = 5) and RNA copy number per swab was converted to that per g (factor = 4.5). We considered the time period starting from the first SARS-CoV-2-positive diagnosis, during which we had evidence that SARS-CoV-2 was present in our geographical region and may circulate. We analyzed the presence of clinical symptoms and the mortality rate among SARS-CoV-2-positive patients sampled in Marseille university hospitals for whom this information was available. Statistical analyses were performed with the OpenEpi online tool ([https://www.openepi.com/Menu/OE\\_Menu.htm](https://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm)).

Between the 27th of February when we began to have positive tests until the 14th of March (17-day period), we tested 4766 respiratory samples from 4050 patients for the presence of SARS-CoV-2 RNA and found that 228 (5.6%) were positive. Tests were performed for people with a broad range of age as 15% of the 4050 subjects were < 10 years, 18% were < 15 years, and 18% were > 65 years (Fig. 1a). As a comparison, 18% of the inhabitants of Marseille city and Bouches-du-Rhône department counted in 2016 were < 15 years (<https://www.insee.fr/fr/statistiques/2011101?geo=COM-13055>; <https://www.insee.fr/fr/statistiques/2011101?geo=DEP-13>). Mean age ( $\pm$  standard deviation) of these 4050 patients was  $40 \pm 25$  years. The proportion of children was significantly lower among SARS-CoV-2-positive than -negative subjects. Thus, 4% and 8% of positive subjects were < 10 and 15 years, respectively, whereas these proportions were 15% and 19%, respectively, among negative subjects [10 and 17/228 versus 578 and 735/3822 ( $p < 10^{-5}$  for both age groups)] (Fig. 1b). In addition, the proportion of positive subjects was significantly lower or showed a tendency to be significantly lower among children whose age was comprised between 0 and 1 years (0/110; 0%), 1–5 years (3/285; 1.1%), and 5–10 years (7/194; 3.6%) than among subjects > 18 years (208/3205; 6.5%) ( $p < 10^{-3}$ ,  $p < 10^{-3}$ , and  $p = 0.074$ , respectively) (Fig. 1c). Besides, among SARS-CoV-2-positive subjects, viral loads did not differ significantly between children or adolescents and adults. Indeed, mean cycle threshold (Ct) value was  $24.8 \pm 4.6$  overall and  $24.9 \pm 4.3$  in children < 10 years,  $26.0 \pm 4.9$  among children and adolescents between 10 and 18 years, and  $24.8 \pm 4.6$  among adults (Fig. 2a). We further considered particularly the Ct values < 19, < 23, and < 26 as we determined that they corresponded to viral loads > 10 billions, > 1 billion, and > 100 millions RNA copies/g of nasopharyngeal secretions. The proportion of Ct values < 19 was 0% (0/10), 0% (0/10) and 9% (19/208) for subjects < 10 years, between 10 and 18 years, and > 18 years, respectively (Fig.

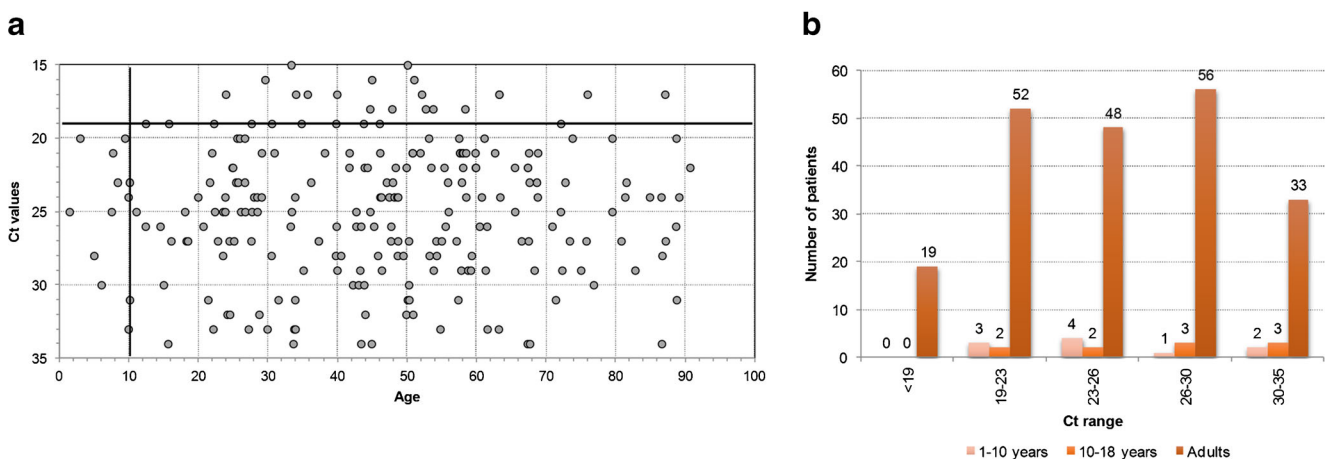
2b). In addition, a tendency toward a significant difference was found between the proportions of Ct values < 19 among subjects < 18 years (0/20; 0%) and those between 45 and 55 years (6/43; 18%) ( $p = 0.090$ ). Finally, the proportions of Ct values comprised between 19 and 26 did not differ significantly between children < 10 years (7/10; 70%), children and adolescents between 10 and 18 years (4/10, 40%), and adults (100/208; 48%).

We collected the presence of clinical symptoms among children and determined the mortality rate among the 99 SARS-CoV-2-positive patients sampled in Marseille university hospitals. Two (2.0%) of them died after being diagnosed with Covid-19. They were 87 and 89 year-old and were admitted with severe acute respiratory syndrome (SARS), and were out of 5 patients > 85 years. The three other patients > 85 years were symptomatic at admission: one presented SARS, one pneumonia, and one upper respiratory tract infection. Among 9 children or adolescents with clinical documentation, six were asymptomatic, one had cough and fever, one had upper respiratory tract infection, and one had isolated fever. No death was observed in subjects younger than 85 years in our series. Mean age  $\pm$  standard deviation for the 129 remaining patients was  $47 \pm 21$  years (range, 1.4–89).

We report in the present work for the first time in France based on the testing of 4050 patients and a series of 228 diagnosed SARS-CoV-2 infections that children and adolescents represented a low proportion of these infections, were majorly asymptomatic, and exhibited viral loads that did not differ significantly at the time of diagnosis with those among adults, and even tended to be lower. Regarding mortality, we observed that 2/5 patients older than 85 years, both admitted with SARS, died. Based on the first Chinese reports on the epidemiology of SARS-CoV-2 infections, it early appeared that these infections were uncommon in children [5, 6]. Thus, children < 10 years and aged of 10–19 years represented 1% each of 72,314 Covid-19 cases in a large study [5], and few pediatric cases have been reported overall [6, 9]. Consequently, it was questioned if children may be less susceptible to Covid-19 [6]. In addition, infections in children were found to be associated with milder clinical symptoms and with faster recovery compared to those in adults [10–12]. These epidemiological and clinical patterns are similar to those previously described for SARS-CoV and MERS-CoV infections [13–16]. Several series of childhood cases of SARS-CoV-2 infections have been reported in China, but overall, information are lacking on incidence relatively to that among adults, and on viral loads in clinical samples. In the largest study conducted to date, Dong et al. reported 731 laboratory-confirmed pediatric cases, among whom 94 (13%) were asymptomatic, 315 (43%) presented mild severity of illness, 300 (41%) moderate severity, 18 (2%) were severe cases, 3 (0.4%) needed intensive cares, and one (0.1%) 14-year-old patient died [12]. Lu et al. reported 171 cases who



**Fig. 1** Distribution of ages among people tested for SARS-CoV-2 infection between the 27th of February and the 14th of March, 2020 (a), distribution of ages among SARS-CoV-2-negative and positive subjects (b), and proportion of positive tests according to groups of age (c)



**Fig. 2** Dot plot representation of the relationship between the age of SARS-CoV-2-positive subjects and the Ct values of PCR tests (a) and distribution of Ct values of PCR according to groups of age (b)

represented 12% of 1391 children with known contact with confirmed or suspected SARS-CoV-2 infections [17]. They described confirmed family members in 77% of the cases, and a milder clinical course in most children compared to adults; one 10-month-old child with intussusceptions died. In a study of 10 symptomatic pediatric cases, SARS-CoV-2 RNA was detected in nasopharyngeal/throat swabs for a mean duration of 12 days (range, 6–22 days) after illness onset [9]. Household exposure was found in seven cases. In another series that included 31 children whose age ranged between 1.5–17 years, 94% of the cases were in family clusters, and 39% were asymptomatic [18]. Liu et al. described that 1.6% ( $n = 6$ ) of 366 hospitalized children with respiratory infections were SARS-CoV-2 positive [19]. The age of these cases ranged between 1 and 7 years. One of them was admitted to an intensive care unit but all recovered. Wang et al. reported a series of 37 SARS-CoV-2-positive children whose age ranged between 7 months and 18 years [20]. Family cluster transmission was suspected in 87% of these cases. Seven cases were asymptomatic and one was severe. Finally, 35% of 82 cases of a median age of 10 years from mainland China had an infected family member [21]. Hence, overall, a majority of childhood cases were part from familial clusters.

In summary, in contrast to flu, our findings confirm that children represent a small proportion of SARS-CoV-2 cases and do not have higher viral loads than adults, and may not be a major reservoir or vector of infections. This is a proof of concept that predictive models based on previously known respiratory viral diseases are vain.

**Author contributions** Conceived and designed the experiments: DR and PC. Contributed materials/analysis tools: all authors. Analyzed the data: PC, JCL, AM, DR. Wrote the paper: PC and DR.

**Funding information** This work was supported by the French Government under the “Investments for the Future” program managed by the National Agency for Research (ANR), Méditerranée-Infection 10-IAHU-03 and was also supported by Région Provence Alpes Côte d’Azur and European funding FEDER PRIMMI (Fonds Européen de Développement Régional - Plateformes de Recherche et d’Innovation Mutualisées Méditerranée Infection).

## Compliance with ethical standards

**Conflict of interest** The authors declare that they have no conflict of interest. Funding sources had no role in the design and conduct of the study; collection, management, analysis, and interpretation of the data; and preparation, review, or approval of the manuscript.

**Ethics** All data have been generated as part of the routine work at Assistance Publique-Hôpitaux de Marseille (Marseille university hospitals), and this study results from routine standard clinical management. The study was a retrospective analysis of patients’ biological and registry data issued from the hospital information system, which is an authorized healthcare database. Access to the registry was approved by the data protection committee of our institution (Assistance publique des

hôpitaux de Marseille, APHM) and was recorded in the European General Data Protection Regulation registry under number RGPD/APHM 2019-73.

## References

- Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L et al (2020) A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579:270–273
- [Anonymous] (2020) Coronavirus COVID-19 Global Cases by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>. Accessed 23 March 2020
- Tsang TK, Cowling BJ, Fang VJ, Chan KH, Ip DK et al (2015) Influenza A virus shedding and infectivity in households. *J Infect Dis* 212:1420–1428
- Tsang TK, Fang VJ, Chan KH, Ip DK, Leung GM et al (2016) Individual correlates of infectivity of influenza A virus infections in households. *PLoS One* 11:e0154418
- Wu Z, McGoogan JM (2020) Characteristics of an important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA* 276:2130
- Lee PI, Hu YL, Chen PY, Huang YC, Hsueh PR (2020) Are children less susceptible to Covid-19? *J Microbiol Immunol Infect* S1684-1182(20):30039–30036
- Lagier JC, Colson P, Tissot-Dupont H, Salomon J, Aubry C et al (2020) Testing the repatriated for SARS-Cov2 : should laboratory-based quarantine replace traditional quarantine? *Travel Med Infect Dis*:101624. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101624>
- Amrane S, Tissot-Dupont H, Doudier B, Eldin C, Hocquart M et al (2020) Rapid viral diagnosis and ambulatory management of suspected COVID-19 cases presenting at the infectious diseases referral hospital in Marseille, France, - January 31st to March 1st, 2020: a respiratory virus snapshot. *Travel Med Infect Dis*:101632. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101632>
- Cai J, Xu J, Lin D, Yang Z, Xu L et al (2020) A case series of children with 2019 novel coronavirus infection: clinical and epidemiological features. *Clin Infect Dis* 57:66430
- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J et al (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 395:497–506
- Hong H, Wang Y, Chung H, Chen CJ (2020) Clinical characteristics of novel coronavirus disease 2019 (Covid-19) in newborns, infants and children. *Pediatr Neonatal*. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2020.03.001>
- Dong Y, Mo X, Hu Y, Qi X, Jiang F et al (2020) Epidemiological characteristics of 2143 pediatric patients with 2019 Coronavirus Disease in China. *Pediatrics*
- Stockman LJ, Massoudi MS, Helfand R, Erdman D, Siwek AM et al (2007) Severe acute respiratory syndrome in children. *Pediatr Infect Dis J* 26:68–74
- Memish ZA, Al-Tawfiq JA, Assiri A, AlRabiah FA, Al HS et al (2014) Middle East respiratory syndrome coronavirus disease in children. *Pediatr Infect Dis J* 33:904–906
- Leung CW, Kwan YW, Ko PW, Chiu SS, Loung PY et al (2004) Severe acute respiratory syndrome among children. *Pediatrics* 113:e535–e543
- Al-Tawfiq JA, Kattan RF, Memish ZA (2016) Middle East respiratory syndrome coronavirus disease is rare in children: an update from Saudi Arabia. *World J Clin Pediatr* 5:391–396
- Lu X, Zhang L, Du H, Zhang J, Li YY et al (2020) SARS-CoV-2 infection in children. *N Engl J Med*. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2005073>

18. Chen C, Cao Cao M, Peng L, Guo X, Yang F et al (2020) Coronavirus Disease-19 among children outside Wuhan, China. *Lancet Child Adolesc Health*. [https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=3546071](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3546071). Accessed 23 March 2020
19. Liu W, Zhang Q, Chen J, Xiang R, Song H et al (2020) Detection of Covid-19 in children in early January 2020 in Wuhan, China. *N Engl J Med*. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2003717>
20. Wang Y, Liu Y, Yang Y, Wang X, Liu L (2020) Clinical implications of 37 childhood cases with 2019-nCoV infection in Shenzhen, China. Research Square
21. Henry BM, Santos de Oliveira MH (2020) Preliminary epidemiological analysis on children and adolescents with novel coronavirus disease 2019 outside Hubei Province, China: an observational study utilizing crowdsourced data. medRxiv

**Publisher's note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

### **PARTIE III : CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Avec le développement des techniques multiplex permettant de réaliser des approches diagnostiques syndromiques, la recherche de co-infections respiratoires et notamment virales a permis une prise en charge rapide et adaptée des patients. Même si les mécanismes qui sous-tendent ces associations virales sont souvent mal connus et peu caractérisés, il paraît important de continuer à les répertorier afin de mieux caractériser l'épidémiologie et la sévérité des infections virales respiratoires.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- [1] Tyrrell D a. J, Bynoe ML. Cultivation of a Novel Type of Common-cold Virus in Organ Cultures. *Br Med J* 1965;1:1467–70. <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5448.1467>.
- [2] Hamre D, Procknow JJ. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc Soc Exp Biol Med* 1966;121:190–3. <https://doi.org/10.3181/00379727-121-30734>.
- [3] McIntosh K, Dees JH, Becker WB, Kapikian AZ, Chanock RM. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1967;57:933–40. <https://doi.org/10.1073/pnas.57.4.933>.
- [4] Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends Microbiol* 2016;24:490–502. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>.
- [5] Yan X, Wan Z, Zhang X, Zheng Q, Zheng K, Huang J, et al. [Isolation and identification of SARS virus in Guangdong province]. *Zhonghua Shi Yan He Lin Chuang Bing Du Xue Za Zhi* 2003;17:213–6.
- [6] Donnelly CA, Ghani AC, Leung GM, Hedley AJ, Fraser C, Riley S, et al. Epidemiological determinants of spread of causal agent of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *Lancet* 2003;361:1761–6. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13410-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13410-1).
- [7] van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJM, Wolthers KC, et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med* 2004;10:368–73. <https://doi.org/10.1038/nm1024>.
- [8] Woo PCY, Lau SKP, Chu C, Chan K, Tsoi H, Huang Y, et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol* 2005;79:884–95. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.2.884-895.2005>.
- [9] Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med* 2012;367:1814–20. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721>.
- [10] Zumla A, Hui DS, Perlman S. Middle East respiratory syndrome. *Lancet* 2015;386:995–1007. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60454-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60454-8).
- [11] Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020;382:727–33. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.
- [12] Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet* 2020;395:497–506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5).

- [13] Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* 2020;5:536–44. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>.
- [14] Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:141–54. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>.
- [15] Ke Z, Oton J, Qu K, Cortese M, Zila V, McKeane L, et al. Structures and distributions of SARS-CoV-2 spike proteins on intact virions. *Nature* 2020;588:498–502. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2665-2>.
- [16] Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology* 2019;16:69. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0>.
- [17] Neuman BW, Buchmeier MJ. Supramolecular Architecture of the Coronavirus Particle. *Adv Virus Res* 2016;96:1–27. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.08.005>.
- [18] HASÖKSÜZ M, KILIÇ S, SARAÇ F. Coronaviruses and SARS-COV-2. *Turk J Med Sci* 2020;50:549–56. <https://doi.org/10.3906/sag-2004-127>.
- [19] Yan L, Zhang Y, Ge J, Zheng L, Gao Y, Wang T, et al. Architecture of a SARS-CoV-2 mini replication and transcription complex. *Nat Commun* 2020;11:5874. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19770-1>.
- [20] Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC, Lely AT, Navis GJ, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol* 2004;203:631–7. <https://doi.org/10.1002/path.1570>.
- [21] Wong NA, Saier MH. The SARS-Coronavirus Infection Cycle: A Survey of Viral Membrane Proteins, Their Functional Interactions and Pathogenesis. *Int J Mol Sci* 2021;22:1308. <https://doi.org/10.3390/ijms22031308>.
- [22] V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol* 2021;19:155–70. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00468-6>.
- [23] Chen N, Zhou M, Dong X, Qu J, Gong F, Han Y, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020;395:507–13. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30211-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30211-7).
- [24] St John AL, Rathore APS. Early Insights into Immune Responses during COVID-19. *J Immunol* 2020;205:555–64. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2000526>.
- [25] Vaira LA, Salzano G, Deiana G, De Riu G. Anosmia and Ageusia: Common Findings in COVID-19 Patients. *Laryngoscope* 2020;130:1787. <https://doi.org/10.1002/lary.28692>.

- [26] Landa N, Mendieta-Eckert M, Fonda-Pascual P, Aguirre T. Chilblain-like lesions on feet and hands during the COVID-19 Pandemic. *Int J Dermatol* 2020;59:739–43. <https://doi.org/10.1111/ijd.14937>.
- [27] Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA* 2020;323:1239–42. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.2648>.
- [28] Wurtz N, Penant G, Jardot P, Duclos N, La Scola B. Culture of SARS-CoV-2 in a panel of laboratory cell lines, permissivity, and differences in growth profile. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2021;40:477–84. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04106-0>.
- [29] La Scola B, Le Bideau M, Andreani J, Hoang VT, Grimaldier C, Colson P, et al. Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020;39:1059–61. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03913-9>.
- [30] Colson P, Levasseur A, Gautret P, Fenollar F, Thuan Hoang V, Delerce J, et al. Introduction into the Marseille geographical area of a mild SARS-CoV-2 variant originating from sub-Saharan Africa: An investigational study. *Travel Med Infect Dis* 2021;40:101980. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2021.101980>.
- [31] Feldman C, Anderson R. The role of co-infections and secondary infections in patients with COVID-19. *Pneumonia (Nathan)* 2021;13:5. <https://doi.org/10.1186/s41479-021-00083-w>.
- [32] Arnold FW, Fuqua JL. Viral respiratory infections: a cause of community-acquired pneumonia or a predisposing factor? *Curr Opin Pulm Med* 2020;26:208–14. <https://doi.org/10.1097/MCP.0000000000000666>.
- [33] Brundage JF, Shanks GD. Deaths from bacterial pneumonia during 1918-19 influenza pandemic. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1193–9. <https://doi.org/10.3201/eid1408.071313>.
- [34] Morens DM, Taubenberger JK, Fauci AS. Predominant role of bacterial pneumonia as a cause of death in pandemic influenza: implications for pandemic influenza preparedness. *J Infect Dis* 2008;198:962–70. <https://doi.org/10.1086/591708>.
- [35] Klein EY, Monteforte B, Gupta A, Jiang W, May L, Hsieh Y-H, et al. The frequency of influenza and bacterial coinfection: a systematic review and meta-analysis. *Influenza Other Respir Viruses* 2016;10:394–403. <https://doi.org/10.1111/irv.12398>.
- [36] Gaunt ER, Hardie A, Claas ECJ, Simmonds P, Templeton KE. Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol* 2010;48:2940–7. <https://doi.org/10.1128/JCM.00636-10>.
- [37] Kuypers J, Martin ET, Heugel J, Wright N, Morrow R, Englund JA. Clinical disease in children associated with newly described coronavirus subtypes. *Pediatrics* 2007;119:e70-76. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-1406>.



- [38] Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R. Syndromic Panel-Based Testing in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev* 2018;31:e00024-17. <https://doi.org/10.1128/CMR.00024-17>.
- [39] Zhang N, Wang L, Deng X, Liang R, Su M, He C, et al. Recent advances in the detection of respiratory virus infection in humans. *J Med Virol* 2020;92:408–17. <https://doi.org/10.1002/jmv.25674>.
- [40] Lin D, Liu L, Zhang M, Hu Y, Yang Q, Guo J, et al. Co-infections of SARS-CoV-2 with multiple common respiratory pathogens in infected patients. *Sci China Life Sci* 2020. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1668-5>.
- [41] Hogg RS, Yip B, Chan KJ, Wood E, Craib KJ, O’Shaughnessy MV, et al. Rates of disease progression by baseline CD4 cell count and viral load after initiating triple-drug therapy. *JAMA* 2001;286:2568–77. <https://doi.org/10.1001/jama.286.20.2568>.
- [42] Ding Q, Lu P, Fan Y, Xia Y, Liu M. The clinical characteristics of pneumonia patients co-infected with 2019 novel coronavirus and influenza virus in Wuhan, China. *J Med Virol* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25781>.
- [43] Wee LE, Ko KKK, Ho WQ, Kwek GTC, Tan TT, Wijaya L. Community-acquired viral respiratory infections amongst hospitalized inpatients during a COVID-19 outbreak in Singapore: co-infection and clinical outcomes. *J Clin Virol* 2020;128:104436. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104436>.
- [44] Zhu X, Ge Y, Wu T, Zhao K, Chen Y, Wu B, et al. Co-infection with respiratory pathogens among COVID-2019 cases. *Virus Res* 2020;285:198005. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198005>.
- [45] Hashemi SA, Safamanesh S, Ghasemzadeh-Moghaddam H, Ghafouri M, Azimian A. High prevalence of SARS-CoV-2 and influenza A virus (H1N1) coinfection in dead patients in Northeastern Iran. *J Med Virol* 2021;93:1008–12. <https://doi.org/10.1002/jmv.26364>.
- [46] Nowak MD, Sordillo EM, Gitman MR, Paniz Mondolfi AE. Co-infection in SARS-CoV-2 infected Patients: Where Are Influenza Virus and Rhinovirus/Enterovirus? *J Med Virol* 2020. <https://doi.org/10.1002/jmv.25953>.
- [47] Kim D, Quinn J, Pinsky B, Shah NH, Brown I. Rates of Co-infection Between SARS-CoV-2 and Other Respiratory Pathogens. *JAMA* 2020. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.6266>.
- [48] Blasco ML, Buesa J, Colomina J, Forner MJ, Galindo MJ, Navarro J, et al. Co-detection of respiratory pathogens in patients hospitalized with Coronavirus viral disease-2019 pneumonia. *Journal of Medical Virology* 2020;92:1799–801. <https://doi.org/10.1002/jmv.25922>.

- [49] Le Hingrat Q, Bouzid D, Choquet C, Laurent O, Lescure F-X, Timsit J-F, et al. Viral epidemiology and SARS-CoV-2 co-infections with other respiratory viruses during the first COVID-19 wave in Paris, France. *Influenza Other Respir Viruses* 2021;15:425–8. <https://doi.org/10.1111/irv.12853>.
- [50] Burrel S, Hausfater P, Dres M, Pourcher V, Luyt C-E, Teysou E, et al. Co-infection of SARS-CoV-2 with other respiratory viruses and performance of lower respiratory tract samples for the diagnosis of COVID-19. *Int J Infect Dis* 2021;102:10–3. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.10.040>.
- [51] Colson P, Lagier J-C, Baudoin J-P, Bou Khalil J, La Scola B, Raoult D. Ultrarapid diagnosis, microscope imaging, genome sequencing, and culture isolation of SARS-CoV-2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020;39:1601–3. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03869-w>.
- [52] Amrane S, Tissot-Dupont H, Doudier B, Eldin C, Hocquart M, Mailhe M, et al. Rapid viral diagnosis and ambulatory management of suspected COVID-19 cases presenting at the infectious diseases referral hospital in Marseille, France, - January 31st to March 1st, 2020: A respiratory virus snapshot. *Travel Med Infect Dis* 2020;36:101632. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101632>.
- [53] Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020;25. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>.
- [54] Drancourt M, Michel-Lepage A, Boyer S, Raoult D. The Point-of-Care Laboratory in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev* 2016;29:429–47. <https://doi.org/10.1128/CMR.00090-15>.
- [55] Lansbury L, Lim B, Baskaran V, Lim WS. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J Infect* 2020;81:266–75. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.05.046>.
- [56] Leuzinger K, Roloff T, Gosert R, Sogaard K, Naegele K, Rentsch K, et al. Epidemiology of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Emergence Amidst Community-Acquired Respiratory Viruses. *J Infect Dis* 2020;222:1270–9. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa464>.
- [57] Singh V, Upadhyay P, Reddy J, Granger J. SARS-CoV-2 respiratory co-infections: Incidence of viral and bacterial co-pathogens. *Int J Infect Dis* 2021;105:617–20. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.02.087>.
- [58] Dadashi M, Khaleghnejad S, Abedi Elkhichi P, Goudarzi M, Goudarzi H, Taghavi A, et al. COVID-19 and Influenza Co-infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne)* 2021;8:681469. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.681469>.
- [59] Yue H, Zhang M, Xing L, Wang K, Rao X, Liu H, et al. The epidemiology and clinical characteristics of co-infection of SARS-CoV-2 and influenza viruses in patients during COVID-19 outbreak. *J Med Virol* 2020;92:2870–3. <https://doi.org/10.1002/jmv.26163>.

- [60] Bai L, Zhao Y, Dong J, Liang S, Guo M, Liu X, et al. Coinfection with influenza A virus enhances SARS-CoV-2 infectivity. *Cell Res* 2021;31:395–403. <https://doi.org/10.1038/s41422-021-00473-1>.
- [61] van der Linden L, Bruning AHL, Thomas XV, Minnaar RP, Rebers SPH, Schinkel J, et al. A molecular epidemiological perspective of rhinovirus types circulating in Amsterdam from 2007 to 2012. *Clin Microbiol Infect* 2016;22:1002.e9-1002.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.08.007>.
- [62] Ma L, Wang W, Le Grange JM, Wang X, Du S, Li C, et al. Coinfection of SARS-CoV-2 and Other Respiratory Pathogens. *Infect Drug Resist* 2020;13:3045–53. <https://doi.org/10.2147/IDR.S267238>.
- [63] Obando-Pacheco P, Justicia-Grande AJ, Rivero-Calle I, Rodríguez-Tenreiro C, Sly P, Ramilo O, et al. Respiratory Syncytial Virus Seasonality: A Global Overview. *J Infect Dis* 2018;217:1356–64. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy056>.
- [64] Stein RT, Bont LJ, Zar H, Polack FP, Park C, Claxton A, et al. Respiratory syncytial virus hospitalization and mortality: Systematic review and meta-analysis. *Pediatr Pulmonol* 2017;52:556–69. <https://doi.org/10.1002/ppul.23570>.
- [65] Falsey AR, Hennessey PA, Formica MA, Cox C, Walsh EE. Respiratory syncytial virus infection in elderly and high-risk adults. *N Engl J Med* 2005;352:1749–59. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043951>.
- [66] Li Y, Pillai P, Miyake F, Nair H. The role of viral co-infections in the severity of acute respiratory infections among children infected with respiratory syncytial virus (RSV): A systematic review and meta-analysis. *J Glob Health* 2020;10:010426. <https://doi.org/10.7189/jogh.10.010426>.
- [67] Lee HN, Koo HJ, Kim SH, Choi SH, Sung H, Do KH. Human Bocavirus Infection in Adults: Clinical Features and Radiological Findings. *Korean J Radiol* 2019;20:1226–35. <https://doi.org/10.3348/kjr.2018.0634>.
- [68] Cebey-López M, Herberg J, Pardo-Seco J, Gómez-Carballea A, Martínón-Torres N, Salas A, et al. Does Viral Co-Infection Influence the Severity of Acute Respiratory Infection in Children? *PLoS One* 2016;11:e0152481. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152481>.
- [69] Fry AM, Curns AT, Harbour K, Hutwagner L, Holman RC, Anderson LJ. Seasonal trends of human parainfluenza viral infections: United States, 1990-2004. *Clin Infect Dis* 2006;43:1016–22. <https://doi.org/10.1086/507638>.
- [70] Álvarez-Argüelles ME, Rojo-Alba S, Pérez Martínez Z, Leal Negrodo Á, Boga Riveiro JA, Alonso Álvarez MA, et al. New clinical and seasonal evidence of infections by Human Parainfluenzavirus. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018;37:2211–7. <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3363-y>.

- [71] Contou D, Claudinon A, Pajot O, Micaëlo M, Longuet Flandre P, Dubert M, et al. Bacterial and viral co-infections in patients with severe SARS-CoV-2 pneumonia admitted to a French ICU. *Ann Intensive Care* 2020;10:119. <https://doi.org/10.1186/s13613-020-00736-x>.
- [72] Alhumaid S, Al Mutair A, Al Alawi Z, Alshawi AM, Alomran SA, Almuhanha MS, et al. Coinfections with Bacteria, Fungi, and Respiratory Viruses in Patients with SARS-CoV-2: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Pathogens* 2021;10:809. <https://doi.org/10.3390/pathogens10070809>.
- [73] Stowe J, Tessier E, Zhao H, Guy R, Muller-Pebody B, Zambon M, et al. Interactions between SARS-CoV-2 and influenza, and the impact of coinfection on disease severity: a test-negative design. *Int J Epidemiol* 2021:dyab081. <https://doi.org/10.1093/ije/dyab081>.
- [74] Alosaimi B, Naeem A, Hamed ME, Alkadi HS, Alanazi T, Al Rehily SS, et al. Influenza co-infection associated with severity and mortality in COVID-19 patients. *Virol J* 2021;18:127. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01594-0>.
- [75] Mandelia Y, Procop GW, Richter SS, Worley S, Liu W, Esper F. Dynamics and predisposition of respiratory viral co-infections in children and adults. *Clin Microbiol Infect* 2021;27:631.e1-631.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.05.042>.
- [76] Colson P, Tissot-Dupont H, Morand A, Boschi C, Ninove L, Esteves-Vieira V, et al. Children account for a small proportion of diagnoses of SARS-CoV-2 infection and do not exhibit greater viral loads than adults. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020;39:1983–7. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03900-0>.
- [77] Viner RM, Mytton OT, Bonell C, Melendez-Torres GJ, Ward J, Hudson L, et al. Susceptibility to SARS-CoV-2 Infection Among Children and Adolescents Compared With Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr* 2021;175:143–56. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2020.4573>.
- [78] Li Y, Wang H, Wang F, Lu X, Du H, Xu J, et al. Co-infections of SARS-CoV-2 with multiple common respiratory pathogens in infected children: A retrospective study. *Medicine (Baltimore)* 2021;100:e24315. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000024315>.
- [79] Karaaslan A, Çetin C, Akın Y, Demir Tekol S, Söbü E, Demirhan R. Coinfection in SARS-CoV-2 Infected Children Patients. *J Infect Dev Ctries* 2021;15:761–5. <https://doi.org/10.3855/jidc.14314>.
- [80] Garazzino S, Lo Vecchio A, Pierantoni L, Calò Carducci FI, Marchetti F, Meini A, et al. Epidemiology, Clinical Features and Prognostic Factors of Pediatric SARS-CoV-2 Infection: Results From an Italian Multicenter Study. *Front Pediatr* 2021;9:649358. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.649358>.
- [81] Fournier P-E, Colson P, Levasseur A, Devaux CA, Gautret P, Bedotto M, et al. Emergence and outcomes of the SARS-CoV-2 “Marseille-4” variant. *Int J Infect Dis* 2021;106:228–36. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.03.068>.

- [82] Dao TL, Hoang VT, Nguyen NN, Delerce J, Chaudet H, Levasseur A, et al. Clinical outcomes in COVID-19 patients infected with different SARS-CoV-2 variants in Marseille, France. *Clin Microbiol Infect* 2021;S1198-743X(21)00270-6. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.05.029>.
- [83] Li Y, Wang X, Msosa T, de Wit F, Murdock J, Nair H. The impact of the 2009 influenza pandemic on the seasonality of human respiratory syncytial virus: A systematic analysis. *Influenza Other Respir Viruses* 2021. <https://doi.org/10.1111/irv.12884>.
- [84] Tang JW, Bialasiewicz S, Dwyer DE, Dilcher M, Tellier R, Taylor J, et al. Where have all the viruses gone? Disappearance of seasonal respiratory viruses during the COVID-19 pandemic. *J Med Virol* 2021;93:4099–101. <https://doi.org/10.1002/jmv.26964>.
- [85] Williams TC, Sinha I, Barr IG, Zambon M. Transmission of paediatric respiratory syncytial virus and influenza in the wake of the COVID-19 pandemic. *Euro Surveill* 2021;26. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.29.2100186>.
- [86] Casalegno J-S, Ploin D, Cantais A, Masson E, Bard E, Valette M, et al. Characteristics of the delayed respiratory syncytial virus epidemic, 2020/2021, Rhône Loire, France. *Euro Surveill* 2021;26. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.29.2100630>.
- [87] van Summeren J, Meijer A, Aspelund G, Casalegno JS, Erna G, Hoang U, et al. Low levels of respiratory syncytial virus activity in Europe during the 2020/21 season: what can we expect in the coming summer and autumn/winter? *Euro Surveill* 2021;26. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2021.26.29.2100639>.
- [88] Dee K, Goldfarb DM, Haney J, Amat JAR, Herder V, Stewart M, et al. Human Rhinovirus Infection Blocks Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Replication Within the Respiratory Epithelium: Implications for COVID-19 Epidemiology. *J Infect Dis* 2021;224:31–8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiab147>.
- [89] Pinky L, Dobrovolny HM. SARS-CoV-2 coinfections: Could influenza and the common cold be beneficial? *J Med Virol* 2020;92:2623–30. <https://doi.org/10.1002/jmv.26098>.
- [90] Pinky L, Dobrovolny HM. Coinfections of the Respiratory Tract: Viral Competition for Resources. *PLoS One* 2016;11:e0155589. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155589>.

## SERMENT DE GALIEN

*Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :*

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.*



## Résumé

Depuis son apparition à Wuhan en Chine en décembre 2019, le nouveau coronavirus humain nommé SARS-CoV-2 a été responsable d'une pandémie mondiale avec plus de 200 millions de cas et de 4,6 millions de décès. A l'IHU Méditerranée Infection à Marseille, nous avons commencé le dépistage de l'infection par RT-PCR à la fin du mois de janvier 2020 et nous avons inscrit ce dépistage dans une approche syndromique respiratoire plus globale avec des PCR multiplex afin de permettre à la fois le diagnostic du SARS-CoV-2 et des autres virus respiratoires. Ainsi, entre le 1<sup>er</sup> mars et le 30 avril 2020 nous avons testé par RT-PCR 4222 patients pour l'infection par le SARS-CoV-2 et les autres virus respiratoires. Un total de 643 patients ont été positifs uniquement pour le SARS-CoV-2 (15,2%), 1068 patients ont été positifs pour un virus autre que le SARS-CoV-2 (25,3%) et 27 patients ont été co-infectés SARS-CoV-2 / autre(s) virus respiratoire(s) (4,2%). Nous avons retrouvé parmi les co-infections surtout des rhinovirus, des coronavirus humains saisonniers et des virus grippaux. Les 27 patients comprenaient 13 hommes pour 14 femmes avec une moyenne d'âge ( $\pm$  écart-type) de  $59,6 \pm 23,8$  ans. Les charges virales au diagnostic pour les patients co-infectés étaient plus élevées pour le SARS-CoV-2 et sur la durée de l'étude un patient a été admis en réanimation et un autre est décédé. Le taux de co-infection était plus élevé chez les patients SARS-CoV-2 négatifs (45%) avec une majorité de rhinovirus.

Dans la littérature, de nombreuses études rapportent des séries de patients co-infectés par le SARS-CoV-2 et un ou plusieurs autres virus respiratoires mais ces taux sont considérablement variables, allant de 0,3% à plus de 30%. Le taux de ces co-infections s'avère lié à la coïncidence de ces différents virus respiratoires. Même si les mécanismes associés à ces co-infections virales respiratoires sont assez mal connus et caractérisés il paraît important de les inclure dans une démarche diagnostique syndromique afin d'adapter au mieux la prise en charge des patients.

Mots-clés : SARS-CoV-2, Covid-19, France, Marseille, coinfections, virus respiratoires.