



éplique Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieure

Et La Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi -Tébessa

Faculté des Sciences Exactes

& des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée



Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention du diplôme de MASTER

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie

Thème

COVID 19 : VIROLOGIE, ÉPIDÉMIOLOGIE ET DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

Présenté Par :

Touati Saida, Aoun Hanane, Rechach Lilia

Devant le jury :

<i>DEBABZA Manel</i>	<i>MCA</i>	<i>Université Larbi Tébessa</i>	<i>Président</i>
<i>TOUMI Nassima</i>	<i>MCA</i>	<i>Université Larbi Tébessa</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>MECHAI Abdelbasset</i>	<i>Pr</i>	<i>Université Larbi Tébessa</i>	<i>Promoteur</i>

Date de soutenance : 11 Juin 2022

Année universitaire : 2021-2022

Remerciements

Nous remercions dieu tout puissant qui nous à donner le pouvoir, le courage et la patience à l'élaboration de cet œuvre.

Arrivée à cette fin précieuse a n'était que fruit des efforts fournis par l'ensemble de l'équipe de l'université de Larbi Tébessi –Tébessa-

*Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
& tous les personnels qui nous a favorisé les meilleures conditions aux études.*

Nous tenons à remercier profondément et à exprimer notre gratitude A :

*Notre encadrant, **Dr. Mechai Abdelbasset** , Pour sa présence lors de cette recherche, ses efforts, il n'a également cessé de nous faire bénéficier de ses précieux conseils et commentaires. Sa disponibilité et ses encouragements nous ont permis de faire ce travail. Et mes profonds remerciements A **tous les enseignants** qui ont participé à notre formation durant 5ans. Et **tous mes collègues.***

*On remercie vivement les **membres de jury Debabza Manel, Toumi Nassima** pour les efforts qu'ils auront fournis à lire et juger ce modeste travail.*

*Et enfin **Nos familles** pour leur soutien pendant cette formation.*

*Merci à nous : **Aoun hanane , Rechach lilia, Touati Saida***

MERCI



Dédicace

Je dédie ce travail tout d'abord :

A mon dieu de m'avoir donné la force pour mener à faire mon travail

*A l'esprit de **mon père** pur qui est le symbole de la volonté et grâce à lui que je suis devenue une femme capable de produire*

*A ma très chère personne dans ma vie **ma mère** « BOUCHOUCHA ZOUBIDA » source de l'amour et le meilleur exemple pour moi, grâce à leurs sacrifices et ses encouragements durant toutes mes études tous les mots sont insuffisants devant ton amour*

A mes chères sœurs : « LILIA, AHLEM, FATIMA, AMEL »

A tous mes oncles et mes tantes et ses familles, cousins et cousines

A toutes mes ami(e)s (ISHAK, LILIA, SAIDA, SOUAD, ROUMAÏSSA SAMAH, AMEL, SANA, IBTISSEM, CHAÏMA, FATHIA, GAMRA, ...) & mes collègues qui m'ont épaulé(e) de près ou de loin durant cette recherche

A tout le personnel de l'hôpital : L'EPSP BACHIR MENTOURI, L'EPH BOUQUERRA BOULAAARASE »

Et surtout Mr. DJOUINI LOTFI & Mr. ADUNI SAÏD qui nous a minimisé toutes les difficultés .et nous a appris la joie d'apprendre notre métier et notre mémoire.

A tous ceux que j'aime et A tous ce qui me connais

Avec l'expression de tous mes sentiments de respect,

A tous Ce que j'aime



Dédicace

Je dédie ce travail tout d'abord :

À mon honorable famille

*À mon père (NADJIB), qui m'a toujours soutenu depuis mon enfance, au cher
qui ne m'a pas aidé à effronté les difficultés de mon chemin*

*À ma chère et tendre mère (RABIAA), qui a veille des nuits afin d'atteindre ce
que je suis aujourd'hui*

À mon frère (MOUGHITH)

*À Mes sœurs (CHAIMA, LOUBNA, RANIME, NARDJESS) pour qui je
demande au tout –puissant succès et paiement dans mes pas*

À mon marie (Yacine), mon soutien dans les moindres détails

À mon grand-mère (YASMINA), à mon oncle (Hamza)

À mes cousines (Souha, Wieme).

*À mes amies (BASMA GUB, RIMA KB, TAKWA RCH, SARA DHB,
TAISSIR, CHAIMA GUM, FELLA, ...)*

Merci à tous



Dédicace

Je dédie ce travail tout d'abord :

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, L'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que Je dédie ce travail...

À mes chers parents

Source de bonheur de tendresse et de soutien, pour toutes les souffrances qu'ils ont endurées pour assurent une bonne éducation. Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À mes chères adorables sœurs et frères.

À la mémoire de mon frère ABDELHALIM

J'aurais tant aimé que tu sois présent. Que Dieu ait ton âme dans sa sainte miséricorde.

À toutes mes chères amies et mes collègues qui m'ont soutenu de loin ou de près.

À toute ma famille

Merci à tous



Résumé

Le monde est confronté à une crise sanitaire sans précédent due à la pandémie de Covid-19. Le virus ne cesse de se propager dans le monde entier depuis sa première apparition en décembre 2019 à Wuhan. Avec plus 528.670.960 cas confirmés et 6.303.059 décès dans le monde en date du 24 Mai 2022 ; à l'échelle national, notre pays a enregistré 265,860 cas confirmés, 6.875 de décès et 178.397 de guérisons. Très contagieuse, la transmission de la COVID-19 est inter-humaine par exposition directes et indirectes aux voies respiratoires, se fait principalement par les gouttelettes respiratoires et dépend du diamètre de ces dernières, ainsi que par contact direct avec une surface contaminée.

La maladie entraîne des troubles respiratoires comme le SARS-CoV et le MERS-CoV et peut causer la mort dans les cas graves. Au stade initial, la maladie peut être identifiée par des symptômes tels que la fièvre, la toux sèche, les myalgies et l'asthénie, mais le défi d'identifier le patient asymptomatique est énorme.

Pour faire face à l'émergence du Sars-CoV-2, de très nombreux tests diagnostiques ont été développés et mis sur le marché dans un délai très court. La RT-PCR sur prélèvement rhino-pharyngé est la méthode de référence pour le diagnostic et le dépistage de l'infection à Sars-CoV-2 mais les tests développés présentent de grande variabilité en termes de sensibilité et de délai de rendu des résultats. Les tests antigéniques présentent en général une sensibilité plus faible mais présentent l'avantage d'une mise en œuvre plus simple et plus rapide. En raison de l'urgence de besoin, de grandes entreprises pharmaceutiques et non pharmaceutiques ont déployé des efforts énormes, en investissant beaucoup de temps et d'argent, et en accélérant le processus de développement, d'évaluation et d'approbation pour mettre au point un vaccin sûr et efficace le plus rapidement possible et maîtriser la pandémie. Plusieurs vaccins traditionnels, d'autres basés sur des acides nucléiques ou des vecteurs viraux ont vu le jour

Mots clés : COVID-19, SARS-CoV-2, physiopathologie, variants, thérapies anti SARS-CoV-2, vaccination

Abstract

The world is facing an unprecedented health crisis due to COVID-19. The virus has continued to spread around the world since its first appearance on December 2019 in Wuhan. With over 528 670 960 confirmed cases and 6,303,059 deaths worldwide on May 24, 2022. Nationally, our country has registered 265,860 confirmed cases, 6,875 deaths and 178,397 recoveries. Very contagious, human-to-human transmission is by direct and indirect exposure by respiratory tracts. This disease causes a respiratory problems such as SARS - COVID and MERS that can cause death in severe cases. In the first stage, this disease can be recognized by symptoms such as fever, dry cough, myalgia, and weakness, but the great challenge is to identify patients without visible symptoms. Transmission occurs mainly by respiratory droplets and depends on the diameter of the latter, and by direct contact with the surface. To deal with the emergence of SARS-CoV-2, a very large number of diagnostic tests were developed and brought to market in a very short time. RT-PCR nasal-pharyngeal biopsy is a reference method for diagnosis and screening for SARS-CoV-2 infection, but tests have been developed that show great variability in sensitivity and timeliness of results. Antigen tests generally have lower sensitivity but have the advantage of simpler and faster execution. Given the need for urgency, pharmaceutical and non-pharmaceutical institutions have made tremendous efforts, investing a lot of time and money, and speeding up the development, evaluation and approval of a safe and effective vaccine as soon as possible, and reducing the pandemic. And many traditional vaccines, emerged on the basis of nucleic acids or viral vectors.

Key words: Covid-19, SARS-COV-2, pathophysiology, variables, anti-SARS-COV-2 therapies, vaccine.

ملخص

إن العالم يواجه أزمة صحية غير مسبوقة بسبب COVID-19، استمر الفيروس في الانتشار في جميع أنحاء العالم منذ ظهوره لأول مرة في ديسمبر 2019 في ووهان. مع أكثر من 960 670 528 حالة مؤكدة و 6303059 حالة وفاة في جميع أنحاء العالم اعتباراً من 24 مايو 2022. على المستوى الوطني، سجلت بلادنا 265.860 حالة إصابة مؤكدة، 6875 حالة وفاة و 178397 حالة شفاء. فيروس معدي جداً، الانتقال بين البشر يتم عن طريق التعرض المباشر وغير المباشر للمجري التنفسية. هذا المرض يسبب مشاكل في الجهاز التنفسي مثل COVID –SARS و MERS يمكن أن يسبب الوفاة في الحالات الشديدة. في المرحلة الأولى، يمكن التعرف على هذا المرض عبر أعراض مثل الحمى والسعال الجاف وألم عضلي، والوهن، ولكن التحدي الكبير المتمثل في تحديد المرضى بدون اعراض ظاهرة. يحدث الانتقال أساساً عن طريق الرذاذ التنفسي ويعتمد على قطر هذا الأخير، وعن طريق الاتصال المباشر مع السطح الملوث. للتعامل مع ظهور مرض سارس – COV – 2، تم وضع عدد كبير جداً من الاختبارات التشخيصية وتقديمهم إلى السوق في وقت قصير جداً. RT – PCR عينة الأنف – البلعوم هو طريقة مرجعية لتشخيص وفحص للعدوى سارس – COV – 2 ولكن وضعت الاختبارات تظهر التباين الشديد في حساسية و وقت تقديم النتائج. اختبارات المستضد عموماً لديهم حساسية أقل ولكن لديها ميزة لتنفيذ أبسط وأسرع. ونظراً لضرورة الاستعجال بذلت المؤسسات الصيدلانية وغير الصيدلانية جهوداً جبارة، استثمار الكثير من الوقت والمال، والإسراع في تطوير وتقييم والموافقة على وضع لقاح آمن وفعال في أسرع وقت ممكن، و الحد من الجائحة. والعديد من اللقاحات التقليدية، ظهرت على أساس الأحماض النووية أو ناقلات فيروسية غير ممرضة.

كلمات مفتاحية :

-Covid 19، -SARS -COV 2، الفيزيولوجيا المرضية، المتغيرات، العلاجات المضادة ل -SARS -COV 2، اللقاح.

Liste des tableaux

CHAPITRE I		
Tableau 1	Situation épidémiologique dans les pays les plus touchés par la pandémie au monde	11
CHAPITRE II		
Tableau 2	Caractéristiques des tests de dépistage de la Covid-19	33
Tableau 3	Résultat et interprétation du test.	34

Liste des figures

INTRODUCTION		
Figure 1	Chronologie des pandémies qui ont marqué l'histoire	1
CHAPITRE I		
Figure 2	Classification des coronaviridae (adaptée) selon le comité international de taxonomie des virus	7
Figure 3	Aspect des particules infectieuses de coronavirus (CoV)	9
Figure 4	Représentation schématique d'un génome de Betacoronavirus de clade A 10	10
Figure 5	Schéma montrant de façon simplifiée la reconnaissance entre le SARS-CoV-2 et une cellule humaine exprimant le récepteur ACE2	13
Figure 6	Représentation de l'entrée du SARS-CoV-2 dans la cellule, principalement le pneumocyte de type 2, et de son cycle de réplication	15
CHAPITRE II		
Figure 7	Chronologie des pandémies qui ont marqué l'histoire	1
Figure 8	Classification des coronaviridae (adaptée) selon le comité international de taxonomie des virus	7
Figure 9	Aspect des particules infectieuses de coronavirus (CoV)	9
Figure 10	Représentation schématique d'un génome de Betacoronavirus de clade A 10	10
Figure 11	Schéma montrant de façon simplifiée la reconnaissance entre le SARS-CoV-2 et une cellule humaine exprimant le récepteur ACE2	13
Figure 12	Représentation de l'entrée du SARS-CoV-2 dans la cellule, principalement le pneumocyte de type 2, et de son cycle de réplication	15
CHAPITRE III		
Figure 13	Chronologie des pandémies qui ont marqué l'histoire	1
CHAPITRE IV		

Figure 14	Aspect des particules infectieuses de coronavirus (CoV)	9
Figure 15	Représentation schématique d'un génome de Betacoronavirus de clade A 10	10
Figure 16	Schéma montrant de façon simplifiée la reconnaissance entre le SARS-CoV-2 et une cellule humaine exprimant le récepteur ACE2	13
Figure 17	Représentation de l'entrée du SARS-CoV-2 dans la cellule, principalement le pneumocyte de type 2, et de son cycle de réplication	15

Liste Des Abréviations

CPA : cellules présentatrice d'antigène

FFP2: Filtering face piece

ICT: Information and communication technology

MHV: Middle hepatic vein

NK: Natural killer .

RBD: Receptor binding Domain .

ORL: Oto-rhino-laryngologie.

P3: Triphosphates

VOC: Volatile Organic compound.

VIH: Virus d'immuno-deficience humain.

Sommaire

Introduction :	1
CHAPITRE I :Coronavirus ; définition, taxonomie et processus physiopathologique.....	4
1. Histoire des coronavirus :	4
2. Coronavirus	
2.1. Définition :	5
2.2 Taxonomie et classification :	6
2.3. Morphologie et génome du SARS-CoV-2	7
2.4. Structure du virus :	7
2.5. Organisation du génome	9
2.6. Situation épidémiologique à travers le monde :	11
2.7 Situation épidémiologique en Algérie :	11
3. Physiopathologie de l'infection par le SARS-CoV-2	12
3.1. Voies de transmission	12
3.2. Cycle viral	12
3.3. Pénétration du virus dans la cellule hôte	13
3.4. La réplication et transcription du génome	13
3.5. La formation et la sécrétion de nouveaux virions	14
3.6. Évolution de l'atteinte clinique.....	16
CHAPITRE II :Réponse immunitaire antivirale.....	18
1. Réponse immunitaire humorale.....	18
2. Réponse immunitaire adaptative :	19
3. Réponse immunitaire cellulaire:	19
4. Phénomène de tempête cytokinique	20
5. Toxicité virale et manifestations cliniques :	21
5.1. Manifestations respiratoires :	22
5.2. Manifestations digestives :	22
5.3 Manifestations ORL :	23
5.4 Risque thrombotique :	23
5.5 Manifestations cardiaques	24
5.6 Manifestations neurologiques :	24
5.7 Manifestations endocrinologiques :	24

5.8 Manifestations rénales :	24
6. Prélèvements réalisés pour le diagnostic d'une infection à SARS-CoV-2	25
7. Diagnostic	26
7.1 Technologies de détection des acides nucléiques :	26
7.1.1 La RT-PCR.....	27
7.1.1.1 Réalisation pratique	27
7.2 Techniques de séquençage nucléotidique à haut débit.....	30
7.3 L'amplification isotherme médiée par boucle ou LAMP (Loop mediated isothermal amplification) :	30
7.4 Tests immunologiques	30
7.4.1 Le test immuno-enzymatique (ELISA)	31
7.4.2 Test rapide de détection d'anticorps (TROD).....	33
7.5 Microscopie électronique :	34
CHAPITRE III : Les variants du SARS-CoV-2 :	35
1. Dénominations des différentes variants :	35
2. Les variants préoccupants ou VOC (variants of concern) :	36
2.1 Le variant B.1.1.7 (Alpha)	36
2.2 Le variant B.1.351 (Beta).....	37
2.3 Le variant P.1 (Gamma).....	37
2.4 Le variant B.1.617.2 (Delta).....	37
2.5 Le variant B.1.1.529 (Omicron)	37
CHAPITRE IV :Prise en charge, pistes thérapeutiques et vaccinales	39
1. Traitement	39
1.1 Traitement non spécifique.....	39
1.1.1 Le traitement symptomatique	39
1.1.2 L'antibiothérapie:.....	39
1.1.3 Corticothérapie :	39
1.1.4 Oxygénothérapie :	40
1.2 Traitement spécifique: (Imzourh, 2022)	40
1.2.1 Thérapies antivirales	41
1.2.1.1 Remdesivir	41
1.2.1.2 Association remdésivir et diltiazem :	41
1.2.1.3 L'association lopinavir / ritonavir :	42
1.2.1.4 Umifenovir :	42

1.2.1.5 L'ivermectine.....	42
1.2.2 Le plasma convalescent.....	42
1.2.3 Les immunoglobulines polyvalentes	42
1.2.4 Les IFN.....	43
1.2.5 TMPRSS2 comme cible thérapeutique.	43
1.2.6 La chloroquine et l'hydroxychloroquine :	43
2. Vaccination:	44
2.1 Aperçu sur le développement du vaccin	44
2.2 Vaccins inactivés	46
2.3 Vaccins à vecteur adénovirus :	47
2.4 Vaccins à ARN :	48
2.5 Vaccins protéiques recombinants :	49
3. Pistes vaccinales utilisées pour le développement des vaccins contre le SARS-Cov-2:	50
4. Les vaccins autorisés dans le monde:	50
4.1 Vaccin BBIBP-CorV (Sinopharm - China National Pharmaceutical Groupe).....	51
4.2 Vaccin Coronavac (Sinovac).....	52
4.3 Vaccin AZD1222 (Oxford University–AstraZeneca).....	52
4.4 Le vaccin Jonhson& Jonhson (Ad26.COVID-2-S [recombinant]):	53
4.5 Le vaccin Sputnik (GAMALEYA) :	54
4.6 Les vaccins à ARNm	54
4.6.1 Vaccin ARNm BNT162b2 (BioNTech-Pfizer)	54
4.6.2 Vaccin RNAm-1273 (Moderna)	55
Conclusion Générale	56
Les Références bibliographiques	58

INTRODUCTION

Introduction :

Depuis l'Antiquité, le monde de l'humanité a connu des guerres avec des ennemis invisibles, causés par des déséquilibres et modifications sociales et environnementales, ce qui a créé des pandémies qui ont été jugées de catastrophes sanitaires par leur énorme taux de létalité. Parmi ces pandémies, on peut citer la peste d'Athènes (-430 à -426 avant J. C), et passant par la peste noire (1347-1352), le choléra (1832-1926), la grippe espagnole (1918-1919). La figure 01 illustre les grandes épidémies et pandémies de l'Histoire.

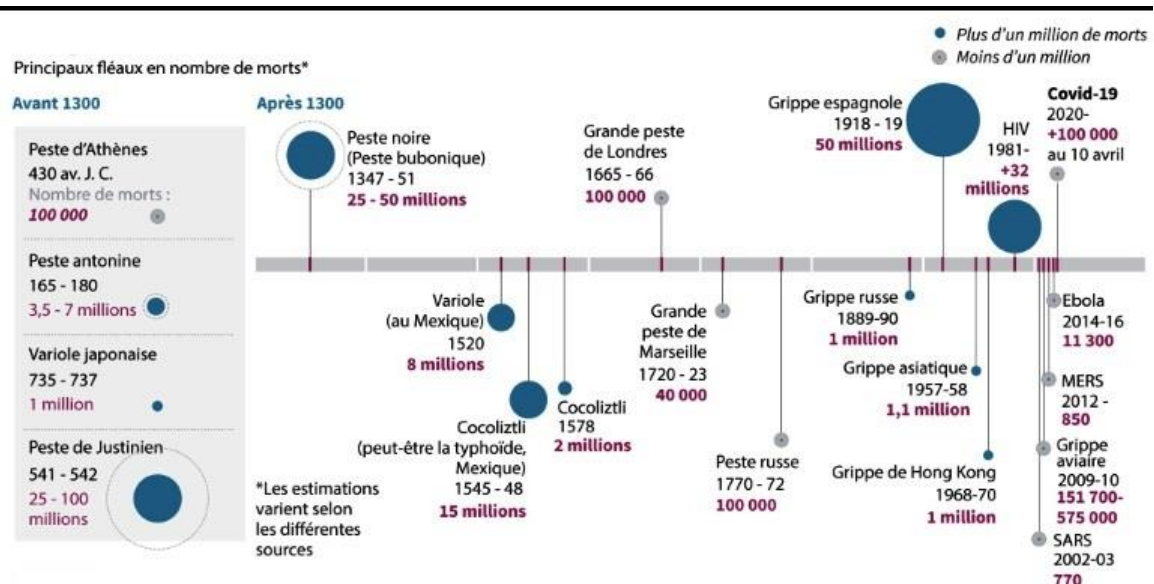


Figure 1:Chronologie des pandémies qui ont marqué l'histoire(Benlamkaddem, 2021)

Le 21^{ème} siècle s'est caractérisé par plusieurs pandémies, la grippe A (H₁N₁) (2009-2010), l'Ebola (2013-2016), le SARS-CoV (2002-2003), la grippe aviaire (2003-2004), le MERS-CoV (2012). La plus marquante est désormais la COVID-19, autrement nommé 'La Tchernobyl du 21^{ème} siècle avec plus de 6 millions de morts dans le monde (Benlamkaddem, 2021; Dockès, 2020).

En décembre 2019, un le coronavirus était identifié dans la ville de Wuhan, province de Hubei en Chine, chez des patients qui présentaient des pneumopathies sévères

inexpliquées (**Caumes, 2020**). Suite à son identification le 7 janvier 2020 par le centre chinois de contrôle et de prévention des maladies, le nouveau virus et la maladie ont été officiellement dénommé SARS-CoV-2 (pour le coronavirus-2 du syndrome respiratoire aigu sévère) et COVID-19 (Pour Coronavirus Disease 2019), respectivement, par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et l'ICTV. Le 11 mars 2020, l'OMS a annoncé publiquement l'épidémie de SRAS-CoV-2 comme une pandémie mondiale (**Tarek Alouane, et al., 2020; Daoui, 2021**).

La COVID-19 est semblable au Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SRAS) dans sa pathogénicité, il peut se manifester soit par une infection asymptomatique, soit par une pneumonie légère à grave. Les éclosions de COVID-19 ont causé une mortalité et une morbidité importantes en Chine et dans le monde (**De Greef et al., 2020**).

Alors que le nombre d'infections confirmées et de décès continue d'augmenter chaque jour, il était essentiel d'approfondir notre compréhension des modes de transmission du virus et de son épidémiologie, sa composition, son évolution génomique, sa cartographie transcriptomique ainsi que les interactions virus-protéines humaines. Ces informations sont nécessaires d'urgence pour l'identification des cibles thérapeutiques pour l'intervention et le développement de vaccins, en plus d'éclairer les politiques de prévention et les décisions de soins aux patients (**Ketfi et al., 2020; Elbahri, 2021**).

La situation actuelle se complique de plus en plus dans de nombreux pays à cause de la propagation de cette pandémie de Covid-19 et des mesures drastiques engagées un peu partout. Des mesures considérées très influentes, dans le sens positif et négatif, sur la vie quotidienne des populations suite au confinement totale et partial imposé (**Jamai et al., 2020**). Comme le reste des pays, l'Algérie n'a pas échappé à cette pandémie, le nombre de cas confirmés n'a pas cessé d'augmenter depuis la déclaration du premier cas, le 25 Février 2020. Au moment de la rédaction de ce mémoire (21 Mai 2022), le bilan porte à 265 847 le nombre total des contaminations depuis le 1^{er} cas signalé en Algérie en mars 2020. Le nombre des personnes rétablies est passé à 258140, soit un taux de guérison de 97.1%. Les cas actifs sont au nombre de 5. Quant aux décès, leur nombre total est passé à 6 875, le taux de létalité est de 2.58%.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés en premier lieu à décrire les caractères virologiques et épidémiologiques du SARS-CoV-2, puis à présenter la physiopathologie et les aspects cliniques associés à COVID-19, ensuite à rappeler les

moyens diagnostiques ainsi que les schémas thérapeutiques pour cette infection, avant de conclure ce travail par un exposé des mesures de prévention et de contrôle de l'infection en milieu de soins et en milieux communautaires. Cette synthèse est basée sur les connaissances disponibles au moment de la publication. Elle peut évoluer en fonction de l'actualisation des connaissances et des données scientifiques, ainsi que de l'évolution de la pandémie.

CHAPITRE I

**Coronavirus ; définition, taxonomie et
processus physiopathologique**

CHAPITRE I

Coronavirus ; définition, taxonomie et processus physiopathologique

1. Histoire des coronavirus :

Les coronavirus (CoV) infectent l'humain et de nombreuses espèces animales (mammifères et oiseaux). Les 1^{ers} CoV ont été décrits chez les animaux et n'ont d'abord pas reçu l'appellation « coronavirus », apparue plus tardivement dans le 1^{er} rapport de l'ICTV en 1971 : description de CoV chez le poulet en 1937 (anciennement IBV, infectious bronchitis virus, maintenant appelé avian coronavirus), le porc en 1946 (anciennement TGEV, transmissible gastro-enteritis virus, maintenant appelé *alphacoronavirus 1*), et la souris en 1949 (anciennement MHV, murine hepatitis virus, maintenant appelé murine coronavirus) (**Vabret *et al.*, 2019**).

Chez l'humain, les 1^{ers} CoV ont été isolés en culture cellulaire dans les années 1960, à partir de sécrétions respiratoires d'individus présentant une infection respiratoire aiguë. De 1967 à 2004, les HCoV (coronavirus humains) ont été négligés en médecine humaine et n'étaient pas recherchés dans les laboratoires de diagnostic virologique. Les 1^{res} connaissances sur la biologie de ces virus ont été acquises à partir de l'étude des CoV animaux IBV, TGEV et MHV (**Ouled ali 2021**).

2. Coronavirus

2.1. Définition :

Les coronavirus ou « virus à couronne » ; faisant référence à l'apparence des virions au microscope électronique. Des virions avec une frange de grandes protubérances entourant l'enveloppe avec l'apparence d'une couronne.

Ce sont des virus à ARN identifiés en 1930, infectant des oiseaux et mammifères et provoquant chez eux des maladies respiratoires, gastro-intestinales, hépatiques et neurologiques.

L'identification des premiers coronavirus humains HCoV a lieu dans les années 1960. Depuis, le groupe des Coronavirus n'a cessé de s'agrandir avec la détection et l'isolement

continuels de nouvelles souches chez différentes espèces, le dernier en date étant le SARS-CoV2, virus responsable de la pandémie de COVID-19. Le groupe des Coronavirus a été organisé en une grande famille taxonomique appelé Coronaviridae, qui a été officiellement reconnue en 1975 par le Comité International de Taxonomie des Virus (ICTV) (Flageul, 2020). Seuls **7** coronavirus sont connus pour provoquer des maladies chez l'Homme et touchant principalement les systèmes digestifs et respiratoires, allant d'un simple rhume ou rhinite à une infection pulmonaire sévère provoquant alors une détresse respiratoire aiguë, pouvant entraîner la mort dans un certain nombre de cas (**Zhengli, 2021**).

Trois des 7 coronavirus causent des infections respiratoires beaucoup plus graves et parfois mortelles chez l'homme que les 4 autres coronavirus. Du point de vue de la santé publique, l'Institut national de la santé et la recherche médicale de France (Inserm) rappelle que ces trois coronavirus émergents ont été au cours de ces dernières années responsables de trois épidémies mortelles :

- **Le SARS-CoV** (2002-2003) : le coronavirus responsable du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS). Le premier coronavirus qui a généré l'intérêt en la médecine humaine. Apparue en Chine avec plus de 8000 cas comptés dans 30 pays et un taux de mortalité de 10%, circulant de manière épidémique entre novembre 2002 et mai 2004.
- **Le MERS-CoV** : le « coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen orient » ; identifié pour la première fois en Arabie saoudite en juin 2012. Avec 1589 recensés dans 26 pays dont 567 décès.

- **Le SARS-CoV-2** à l'origine de la COVID 19 responsable à partir de novembre 2019 d'une épidémie, requalifiée en mars 2020 par OMS, en pandémie. Semblable au SARS-CoV et au MERS-CoV, le SARS-CoV-2 est une zoonose virale émergente qui attaque le système respiratoire provoquant une pneumonie virale, et peut également affecter le système gastrointestinal, le cœur, les reins, le foie et le système nerveux central, entraînant une défaillance causant le décès.

2.2 Taxonomie et classification :

Les coronavirus sont des virus à enveloppe sphérique, mesurant environ 80 à 220 nm de diamètre, composés d'un génome à ARN, monocaténaire, à sens positif mesurant environ 26 à 32 kb. La famille des *Coronaviridae* est classée dans le domaine des *Riboviria*, qui comprend tous les virus et viroïdes à ARN. (**Lefevre et al., 2020; Mourez et al., 2019**). Les coronavirus sont l'un des plus grands groupes appartenant à l'ordre nidovirale, sous ordre des *Cornidovirineae* et famille des *Coronaviridae*. Les *Coronaviridae* sont classés en deux sous familles, *Letovirinae* et *Orthocoronavirinae*. *Letovirinae* comprend le genre *Alphaletovirus*, alors que les *Orthocoronavirinae* sont classés en fonction de leurs relations phylogéniques de leur structure génomique en quatre genres : *Alphacoronavirus* (α CoV), *Betacoronavirus* (β CoV), *Gammacoronavirus* (γ CoV) et *Deltacoronavirus* (δ CoV) qui contiennent respectivement 17, 12, 2 et 7 espèces uniques (ICTV 2018). (Wang et al., 2020)

Les *alphacoronavirus* et les *betacoronavirus* n'infectent que les mammifères. Les *gammacoronavirus* et les *deltacoronavirus* infectent principalement les oiseaux(8,9). Jusqu'en 2019, six coronavirus ont été identifiés comme responsables d'infection chez l'homme. Deux entre eux (SARS- CoV et MERS- CoV), provoquent un syndrome respiratoire grave chez l'homme, et les quatre autres (HCoV- NL63, HCoV- 229E, HCoV- OC43 et HKU1) n'induisent que des infections bénignes des voies respiratoires supérieures chez des hôtes immunocompétents (**Habbari, 2021 ; Segondy, 2020**). La figure 02 illustre la classification la plus récente des coronavirus.

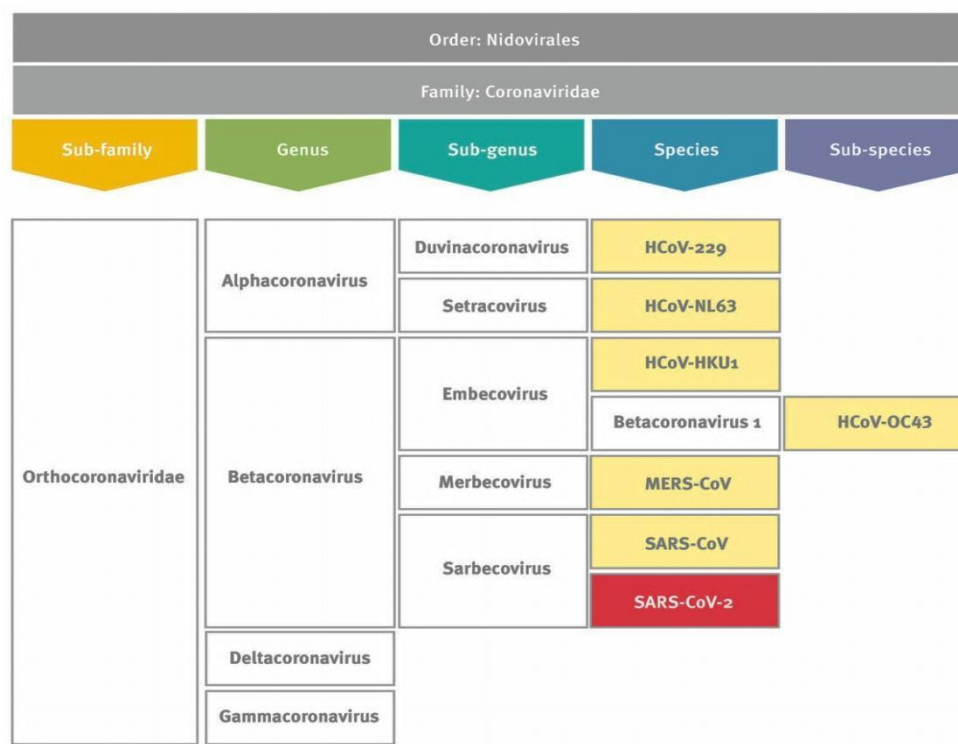


Figure 2: Classification des coronaviridae (adaptée) selon le comité international de taxonomie des virus (Fellah, 2022)

2.3. Morphologie et génome du SARS-CoV-2

Virus sphérique, enveloppe de 60-220 nm, comprend de l'extérieure vers l'intérieure, la glycoprotéine SPIK (s) (donne l'aspect en couronne au virus en microscopie électronique), l'enveloppe, la membrane et la nucléocapside elle-même, icosaédrique à symétrie cubique. Cette dernière contient une molécule de génome viral : de l'acide ribonucléique (ARN) monocaténaire, non segmenté et positif (29 881 paires de bases) (Jamai *et al.*, 2020)

2.4. Structure du virus :

Le SARS-Cov-2 est un virus sphérique ou pléomorphe à ARN monocaténaire positivement polarisé avec un diamètre de 80 à 120 nm.

Il possède une nucléocapside hélicoïdale, formée de la protéine de capsid (N) associée à l'ARN viral. Elle est entourée par une enveloppe phospholipidique qui contient les glycoprotéines de surface (S, HE, M et E). Par conséquent, le SARS-CoV-2 est connu comme un virus enveloppé, qui utilise les lipides de la cellule hôte lorsqu'il bourgeonne pour former un nouveau virion (figure 03). (Ouled ali, 2021)

- ✓ **La protéine Spike** : Il s'agit d'une glycoprotéine transmembranaire présente à la surface du virus, dont le poids moléculaire est de 150 kD. Elle contient 3 chaînes peptidiques similaires de 1273 acides aminés. Elle est formée de deux sous-unités : S1 de forme globulaire avec un champ de liaison au récepteur cellulaire, et S2 qui a un rôle nécessaire lors de la fusion du virus à la membrane cellulaire.
- ✓ **La protéine M** est la protéine la plus abondante à l'extérieur de la membrane virale. Elle agit en liant le génome à la surface interne de la membrane de la cellule hôte .
- ✓ **La glycoprotéine d'enveloppe E**, est la plus petite des principales protéines structurales, composée d'environ 75 acides aminés et participe dans l'assemblage viral et à la libération des virions
- ✓ **La protéine HE** ou hémagglutinine estérase est une hémagglutinine semblable à l'hémagglutinine du virus de la grippe. Elle a une activité acétyl-estérase. Elle agit en aidant à l'entrée du virus dans la cellule hôte. Elle joue également un rôle important dans la pathogenèse des coronavirus qui contiennent une telle protéine dans leur structure virale.
- ✓ **Les protéines de surface**, en particulier **les protéines S** donnent l'apparence d'une couronne entourant la particule virale et donnent au virus son nom commun: coronavirus. Cependant, l'assemblage de ces protéines dans le virion infectieux entraîne une toxicité et une infectiosité distinctes du coronavirus.

✓ **La protéine de la nucléocapside (N) :**

Constitue la seule protéine présente dans la nucléocapside. Elle est d'une taille comprise entre 377 à 455 acides aminés, c'est une phosphoprotéine fortement basique modulant la synthèse d'ARN viral auquel elle se fixe pour former une nucléocapside en hélice. (Lahnikate, 2021)

Elle est composée de deux domaines distincts, un domaine N-terminal (NTD) et un domaine C-terminal (CTD), tous deux capables de se lier à l'ARN in vitro, mais chaque domaine utilise des mécanismes différents pour se lier à l'ARN.

Il a été suggéré que la liaison optimale de l'ARN nécessite des contributions des deux domaines.

La protéine N est également fortement phosphorylée, et la phosphorylation a été suggérée pour déclencher un changement structurel améliorant l'affinité pour l'ARN

viral par rapport à l'ARN non viral. La protéine N se lie au génome viral dans une conformation de type perles-sur-une-chaîne.

Deux substrats ARN spécifiques ont été identifiés pour la protéine N; les TRS (transcription regulatory sequence) et le signal d'encapsidation génomique. Le signal d'encapsidation génomique se lie spécifiquement au deuxième domaine de liaison à l'ARN C-terminal.

La protéine N se lie également à la protéine non structurale 3 (nsp3), un composant clé du complexe de réplicase, et à la protéine M.

Ces interactions protéiques aident probablement à attacher le génome viral au complexe réplicase-transcriptase (RTC), et ensuite à conditionner le génome encapsidé en particules virales.

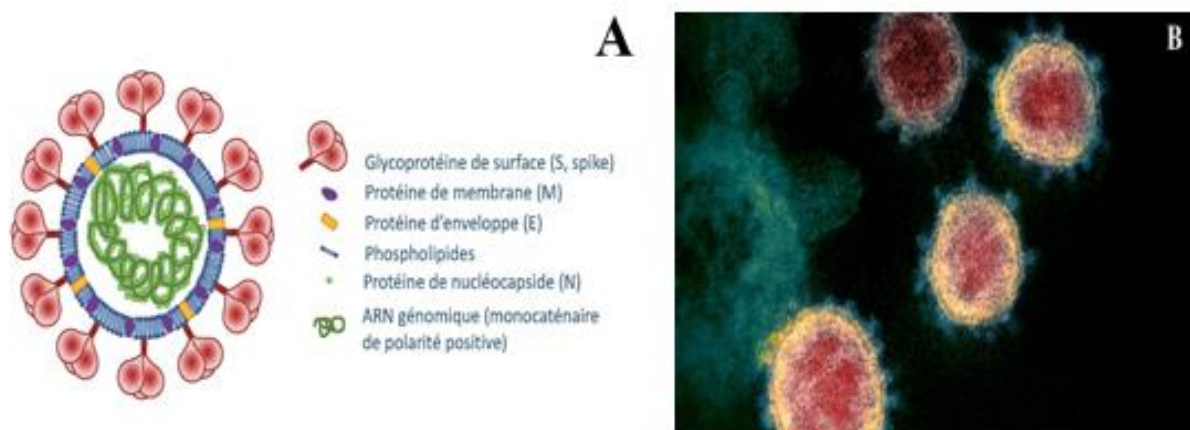


Figure 3: Aspect des particules infectieuses de coronavirus (CoV) (Mahieu et al., 2020)

A. Représentation schématique d'un *Betacoronavirus* de clade A. les protéines S forment une large couronne à la surface du virus. Les protéines HE, exclusive des *Betacoronavirus* de clade A, forment une 2^{nde} couronne plus petite. Les protéines M et E constituent la matrice et l'enveloppe. Les protéines N constituent la nucléocapside et sont étroitement liées à l'ARN génomique (Nathalie Kin). **B.** Micrographies de particules virales de MERS-CoV en microscopie électronique à transmission (Mahieu et al., 2020)

2.5. Organisation du génome

Le génome des bêtacoronavirus possède des caractéristiques communes avec les autres coronavirus dont des éléments fondamentaux pour leur réplication avec quelques éléments spécifiques à lui-même (Lahnikate, 2021).

Le génome est constitué d'un ARN simple brin positif ; l'un des plus grands génomes viraux à ARN avec une taille comprise entre 27,6 et 31,5 kb (**figure 04**). La taille du génome du SARS-CoV varie de 29,0 kb à 30,2 kb et le génome de MERS-CoV contient 30119 nucléotides (Vabret et al., 2019).

Le génome est organisé de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' comme suit (figure 4) :

- **A l'extrémité 5'**, se trouve une des structures génomiques indispensables à la transcription virale ; c'est la séquence leader ou LS (leader sequence)

Elle est suivie d'une autre séquence fondamentale à la transcription ; il s'agit d'une séquence hexamérique appelée TRS (transcription regulating sequence ou séquence de régulation de la transcription), retrouvée de manière périodique le long du génome avant chaque gène d'où l'appellation body. TRS.

Les deux tiers du génome occupés par la première structure codante, qui est constituée de deux ORFs correspondent au gène de la réplicase (1a et 1b), liés par une structure en pseudo-nœud caractéristique de l'ordre des Nidovirales. Ces ORFs supportent entre autre l'activité de RdRp RNA-dépendant RNA-polymerase ou ARN polymérase ARN dépendante. Ils sont suivis d'une série d'ORFS agencés dans le même ordre dans toutes les souches de coronavirus ; codant respectivement les protéines structurales : protéine S, protéine E, protéine M et protéine N. Entre ces gènes codant les protéines structurales, se trouve des gènes codant pour des protéines non structurales, à l'exception de la protéine HE absente dans le SARS-CoV. La réplication des coronavirus a été longtemps étudié, il se divise en trois grandes étapes (**Labrouzi, 2021**).

- **A l'extrémité 3'** se trouve une séquence nécessaire à la transcription, il s'agit de la séquence 3'UTR untranslated region . (**El kartouti, 2021**).

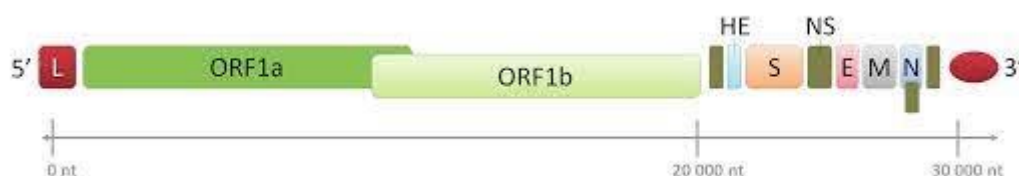


Figure 4. Représentation schématique d'un génome de Betacoronavirus de clade A (**El kartouti, 2021**).

Le génome du HCoV-OC43 comporte 31 728 nucléotides (nt). Les extrémités 5' (L = séquence leader, rectangle rouge) et 3' (queue polyA, cercle rouge) sont non codantes. Les 2 premiers tiers du génome sont constitués de 2 ORF chevauchantes, ORF1a et OFR1b, codant le complexe de réplication / transcription. Les gènes codant les protéines de structure sont toujours dans le même ordre : HE/S/E/M/N. Les ORF codant les protéines non structurales (en marron clair sur le schéma) sont en nombre et en position variables selon les espèces de coronavirus.

2.6. Situation épidémiologique à travers le monde :

À l'échelle mondiale, jusqu'à 21 Mai 2022, 526.812.675 cas sont confirmés de COVID-

19, dont 6.299.073 décès, ont été signalés à l'OMS depuis le début de l'épidémie. Au moment de la rédaction de ce mémoire (le 20/05/2022), les statistiques du site coronavirus statistique (<https://www.coronavirus-statistiques.com/stats-globale>) (**tableau 01**) montrent les pays les plus touchés selon le nombre de décès et les cas confirmés.

Tableau 1. Situation épidémiologique dans les pays les plus touchés par la pandémie au monde

Pays	Total cas cumulés	Cas actifs	total décès	Guérisons	% de la population complètement vaccinée
Monde	526, 815,632	23, 879,584	6, 299,098	496, 636,950	60,3 %
USA	84, 935,262	2, 361,355	1, 028,741	81, 545,166	67,0 %
Inde	43, 134,332	15,183	524,348	42, 594,801	63.7%
Brasil	30, 762,413	295,593	665,595	29, 801,225	77,9 %
Royaume uni	22, 238,715	256,240	177,977	21, 804,498	74,2 %
Russie	18, 288,740	227,381	378,270	17, 683,089	51.1%
Mexique	5, 752,441	377,404	324,617	5, 050,420	62.0%

2.7 Situation épidémiologique en Algérie :

Jusqu'au 21 Mai 2022, le bilan porte à 265 847 le nombre total des contaminations depuis le premier cas signalé en Algérie en mars 2020. Le nombre des personnes rétablies est passé à 178386, soit un taux de guérison de 67.10%. Les cas actifs sont au nombre de 5. Quant aux décès, leur nombre total est passé à 6 875, le taux de létalité est de 2.58% (<https://www.coronavirus-statistiques.com/stats-globale>). Quant au plan vaccinal, le ministère dans son bulletin quotidien sur la situation épidémiologique

Covid-19 a précisé que le nombre de primo-vaccinés est de 7840131 (17.3%), alors que celui des personnes qui ont reçu la première et la deuxième dose s'élève à 6481180 (14.8%).

3. Physiopathologie de l'infection par le SARS-CoV-2

3.1. Voies de transmission

Il a été admis que le SARS-CoV-2 se transmet essentiellement par l'émission de gouttelettes respiratoires. Le SARS-CoV-2 se transmet essentiellement par l'émission de gouttelettes respiratoires. Ces gouttelettes chargées de particules virales pourraient infecter un sujet susceptible soit par contact direct avec une muqueuse (transmission directe) soit par contact avec une surface infectée par les muqueuses nasales, buccales ou conjonctivales (transmission indirecte). Elles peuvent être projetées à plusieurs mètres de distance mais ne persistent pas dans l'air (**Birgand et al., 2022 ; Bonny et al., 2020**).

Bien que le virus puisse survivre au moins trois heures après aérosolisation expérimentale. En revanche, le virus peut survivre plusieurs jours sur des surfaces inertes. Autres voies de transmission : en dehors des prélèvements respiratoires, l'ARN viral a également été détecté dans les selles et le sang des patients infectés (**Segondy, 2020**). Si certains virus ont pu être cultivés vivants à partir des selles et que le SARS-CoV-2 est capable d'infecter les entérocytes humains, il n'existe pas aujourd'hui de preuve définitive d'une transmission féco-orale significative. De même, malgré l'existence possible d'une virémie, la transmission intra-utérine du virus reste à démontrer à ce jour, bien que quelques cas suspects aient été rapportés. Enfin l'isolement de l'ARN viral dans les urines reste à ce jour très peu décrit.

3.2. Cycle viral

Le cycle de réplication des coronavirus a été longtemps étudié, il se divise en trois grandes étapes (Labrouzi, 2020):

- ✓ Pénétration et entrée du virus dans la cellule hôte
- ✓ La réplication du génome
- ✓ La formation et la sécrétion de nouveaux virions

3.3. Pénétration du virus dans la cellule hôte

La protéine S du SARS-CoV-2 utilise le récepteur cellulaire ACE2 – une metalloprotéase dont la fonction première est la dégradation de l'angiotensine II en angiotensine 1-7 – pour rentrer dans la cellule hôte (**Figure 05**). Bien étudiée chez le SARS-CoV-1, la liaison de la sous unité S1 à ACE2 entraîne une modification conformationnelle de la protéine S, exposant S2 et permettant l'endocytose puis la fusion membranaire. Cette fusion nécessite l'activation de S par le clivage au niveau de la jonction S1/S2 et d'un autre site de S2, notamment réalisée par la protéase membranaire TMPRSS2 (transmembrane protease serine 2). Dans le cas du SARS-CoV-2, l'ajout d'un site de clivage furine permet un clivage des sous-unités S1/S2 dès la biosynthèse virale et pourrait majorer le potentiel infectant du virus (**Benlamkaddem, 2021**).

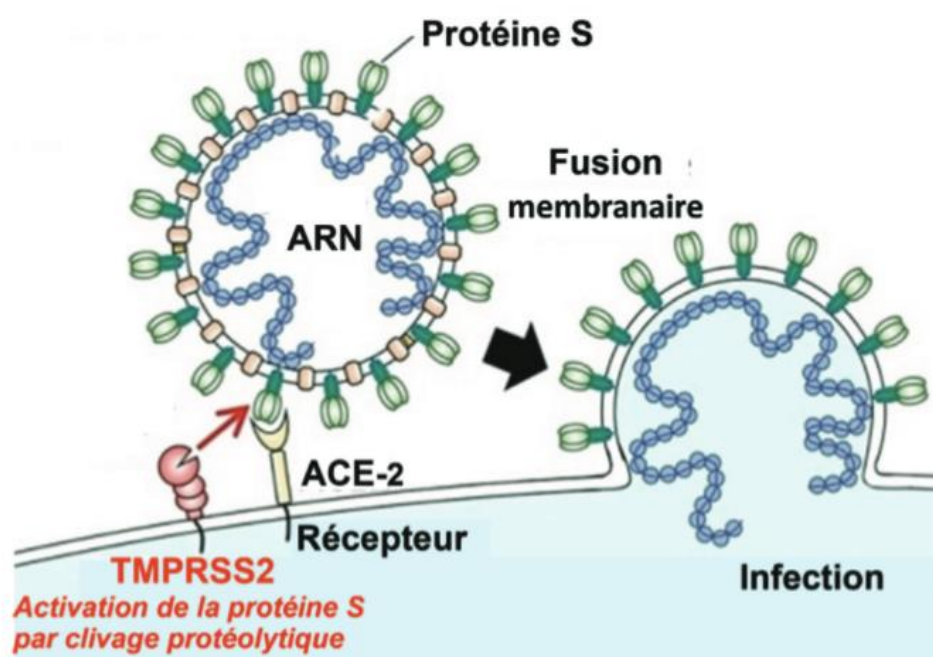


Figure 5: Schéma montrant de façon simplifiée la reconnaissance entre le SARS-CoV-2 et une cellule humaine exprimant le récepteur ACE2. (**Segondy, 2020**)

3.4. La réplication et transcription du génome

Après l'étape de la fusion et le largage de la nucléocapside dans le cytosol, une traduction du gène de la réplicase par la machinerie cellulaire en deux polyprotéines pp1a et pp1ab est effectuée (**figure 06**). Ces dernières vont ensuite être clivées en plusieurs protéines essentielles au cycle viral, à savoir une ARN-polymérase ARN-

dépendante et deux protéases virales qui vont former le complexe de transcription et de réplication. Ce dernier permet d'un coté de recopier l'ARN viral et d'un autre de produire des protéines de structure des nouveaux virions par le biais de la formation de petits brins d'ARN anti-sens appelés ARN sub-génomiques (**Benlankaddem, 2021**).

3.5. La formation et la sécrétion de nouveaux virions

Enfin, les brins d'ARN synthétisés sont assemblés avec la protéine N afin de créer la nucléocapside hélicoïdale et le bourgeonnement de nouvelles particules virales est favorisé par l'assemblage avec les glycoprotéines d'enveloppe (**figure 06**). La connaissance du cycle viral permet de définir les cibles thérapeutiques bloquant sa réplication (**Abrouzi, 2021**).

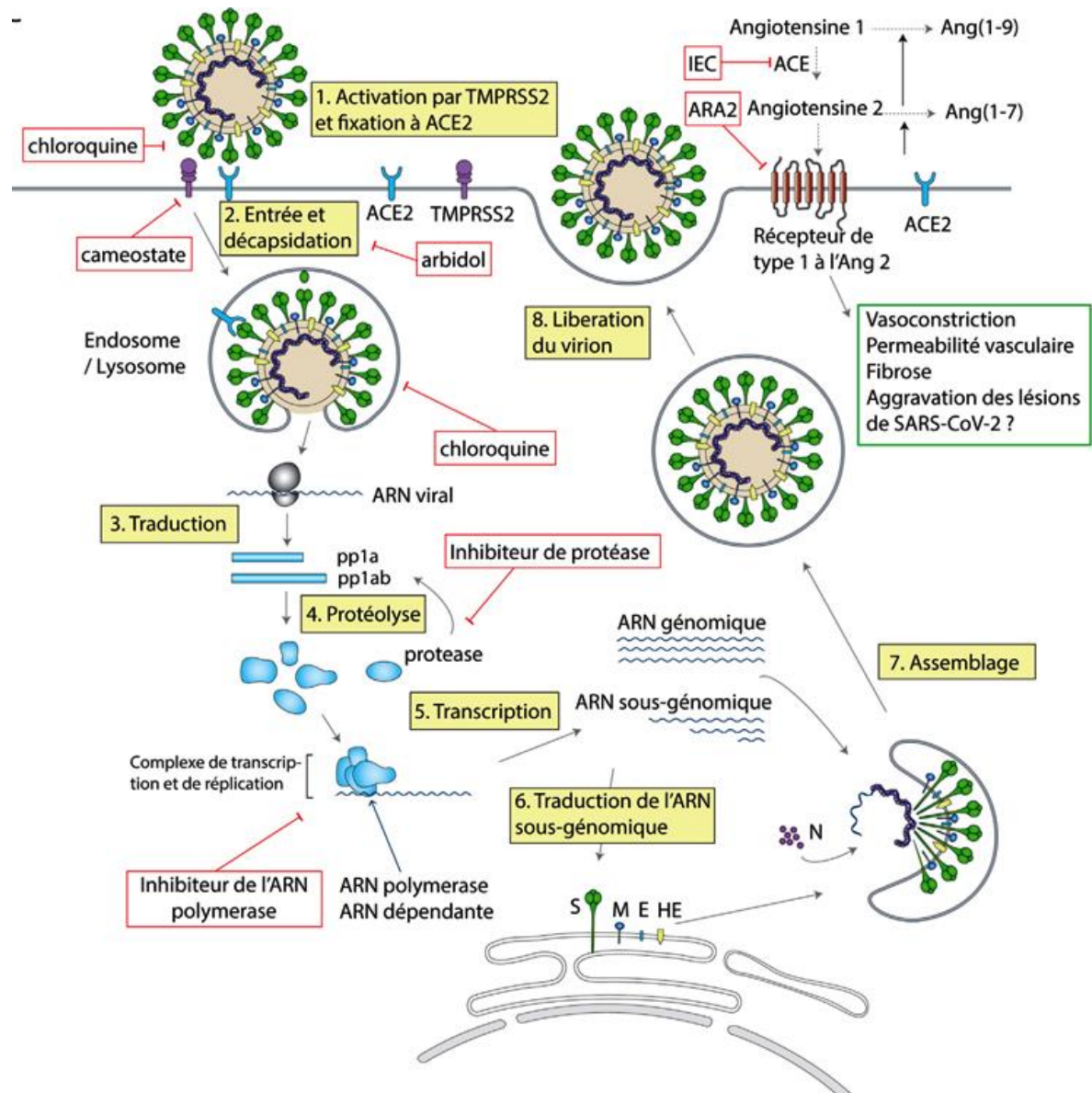


Figure 6: Représentation de l'entrée du SARS-CoV-2 dans la cellule, principalement le pneumocyte de type 2, et de son cycle de réplication. (Benlankaddem, 2021).

Après fixation de la protéine S sur le récepteur ACE2 et activation par clivage de S par la protéase membranaire TMPRSS2 (1), le complexe viral est endocyté. La fusion membranaire libère la nucléocapside dans le cytosol (2) où le gène réplicase (orf1a et orf1b) de l'ARN viral est traduit en polyprotéines pp1a et pp1ab (3). La protéolyse de ces polyprotéines par la protéase encodée par orf1a (4) donnera les protéines formant un vaste complexe de transcription et de réplication (5). Ce complexe protéique permet de reproduire l'ARN génomique et, via la synthèse d'ARN sous-génomique, de former les protéines de structures virales (6). Les nouvelles particules virales sont assemblées à partir de l'ARN génomique, de la protéine de capsid et des

glycoprotéines d'enveloppe (7). La diminution de l'expression membranaire d'ACE2 résultant de l'endocytose du complexe viral pourrait activer localement le système rénine-angiotensine-aldostérone et aggraver les lésions pulmonaires. Abréviations: ORF opening reading frame; TMPRSS2 Transmembrane protease serine 2; ACE Enzyme de conversion de l'angiotensine; IEC inhibiteur de l'enzyme de conversion; ARA2 inhibiteur du récepteur à l'angiotensine 2.

3.6. Évolution de l'atteinte clinique

L'infection par le SARS-CoV-2 semble progresser en trois phases : La phase d'incubation est suivie d'une phase symptomatique qui apparaît dans un délai médian de 5 jours après le comptage et concerne 70 % des patients infectés. Une phase d'aggravation dont le délai médian d'apparition du syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) à partir de l'apparition de la maladie ou des symptômes chez 3,4% des patients est de 8 jours. Le taux de mortalité lié au SDRA est autour de 50% (**Jamai et al., 2020**).

Dans certains cas, les symptômes sont bénins et similaires à ceux du rhume; chez ces patients, la guérison peut se produire sans aucun traitement. Les symptômes les moins fréquemment observés comprennent des nausées ou des vomissements, des crachats de sang ou de mucus sanglant, et une conjonctivite virale provoquant des yeux rouges, des écoulements aqueux des yeux, des paupières enflées et une sensibilité à la lumière, symptômes occasionnelles respiratoires et gastro - intestinaux supérieurs, accompagnés par des changements des signes vitaux tels que la respiration accrue (fréquence cardiaque) et la pression artérielle peuvent également être observés, en particulier chez les personnes âgées et chez les personnes souffrant de maladies cardiaques, les maladies respiratoires chroniques et le diabète (**Anzi, 2021**). De plus, les patients gravement malades avec le COVID-19 peuvent présenter une thromboembolie veineuse accrue, y compris une thrombocytopénie, un D-dimère élevé, un temps de prothrombine prolongé et une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD). Ces anomalies de la coagulation sont associées à une réponse inflammatoire systémique et à un déséquilibre entre les mécanismes d'homéostasie pro-coagulante et anticoagulante et augmenter le risque de mortalité. Certaines de ces caractéristiques cliniques sont également observées dans les cas de DIC observés chez des patients septiques. Ces caractéristiques sont très distinctes chez les patients

atteints de COVID-19 car leurs niveaux sont supérieurs aux normes pour la septicémie (Plaçais & Richier, 2020).

3.7. Le tropisme cellulaire du Sars-CoV-2

Le récepteur viral est la protéine *angiotensin converting enzyme 2* (ACE2), présente sur l'ensemble du tractus respiratoire, mais également sur les cellules du tractus gastro-intestinal et les cellules endothéliales. La réaction immunitaire en réponse à l'infection est un autre élément essentiel de la physiopathologie de la maladie. Elle peut aller d'une forme asymptomatique, avec une clairance virale associée à une production d'anticorps neutralisants, à une réponse inflammatoire disproportionnée et délétère pour l'organisme (Mahieu et Dubée, 2020).

Selon les données épidémiologiques, l'infection par le SARS-CoV-2 semble évoluer en trois phases:

- **La phase d'incubation** qui correspond à l'intervalle entre la date d'un premier contact potentiel avec un patient atteint de COVID-19 et la date d'apparition des signes cliniques. La période d'incubation varie de deux à quatorze jours avec une moyenne de 5 jours.
- **La phase symptomatique** qui apparaît dans un délai médian de 5 jours après le comptage et qui concernerait 70 % des patients infectés.
- **La phase d'aggravation** des symptômes respiratoires : environ 3,4 % des patients développeraient un SDRA dans un délai médian de 8 jours après les premiers symptômes (Youssef, 2022).

CHAPITRE II

Réponse immunitaire antivirale

CHAPITRE II

Réponse immunitaire antivirale

Au début de l'infection, le SRAS-CoV-2 cible les cellules, telles que les cellules épithéliales nasales et bronchiques et les pneumocytes, via la protéine de pointe structurale virale (S) qui se lie au récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2). La sérine protéase transmembranaire de type 2 (TMPRSS2), présente dans la cellule hôte, favorise l'absorption virale en coupant l'ACE2 et en activant la protéine SRAS-CoV-2 S, qui médie l'entrée du coronavirus dans les cellules hôtes (**Bertholom, 2021**). ACE2 et TMPRSS2 sont exprimés dans les cellules cibles de l'hôte, en particulier les cellules épithéliales alvéolaires de type II. Comme d'autres maladies virales respiratoires, telles que la grippe, une lymphopénie profonde peut survenir chez les personnes atteintes de COVID-19 lorsque le SRAS-CoV-2 infecte et tue les cellules lymphocytaires T. De plus, la réponse inflammatoire virale, constituée à la fois de la réponse immunitaire innée et acquise (comprenant l'immunité humorale et à médiation cellulaire) (**Lelièvre et al., 2020**).

1. Réponse immunitaire humorale

La réponse immunitaire humorale, est caractérisée par la production d'anticorps neutralisants dirigés contre la protéine N de la Nucléocapside, la protéine S et le RBD (receptor binding domain) du virus SARS-CoV-2 (**Reynaud et al, 2021**), ces anticorps jouent un rôle dans l'élimination du virus via la phagocytose dépendante d'anticorps ou la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) (. Les anticorps dirigés contre le domaine RBD sont hautement immunogènes. En effet, ces anticorps bloquent l'interaction de domaine RBD avec le récepteur ACE2 ce qui empêche la pénétration du virus SARS-CoV-2 dans la cellule cible. Dans le cas du virus SARS-COV-1, les IgG étaient détectables en moyenne 2 semaines après le début des symptômes, avec un pic après 2 mois. Ces taux élevés sont restés présents

pendant 6 mois, puis ont diminué progressivement (demi-vie médiane : 6,4 semaines) pour devenir indétectables 2 ans après la maladie. Les IgM sont devenues indétectables 3 mois après la maladie (**Lamara Mahammed *et al*, 2020**).

2. Réponse immunitaire adaptative :

La reconnaissance des antigènes viraux par les CPA entraîne une activation des cellules

T, B et NK (*Natural killer*) (**figure 07**), déclenchant une réponse lymphocytaire B mémoire convergeant à une production d'anticorps spécifiques et neutralisants, et une réponse lymphocytaire T et NK antivirale avec expression de marqueurs d'exhaustion, ainsi qu'une apoptose lymphocytaire. La réponse immunitaire adaptative humorale et cellulaire lors de l'infection SARS-CoV-2 est dirigée contre de très nombreux antigènes du virus (protéine S et ses composants, nucléocapside, ORF9b, nsp5, et autres, la réactivité semblant plus forte contre certaines protéines par exemple contre la protéine S entière que contre le RBD (**Fallet *et al*, 2021**).

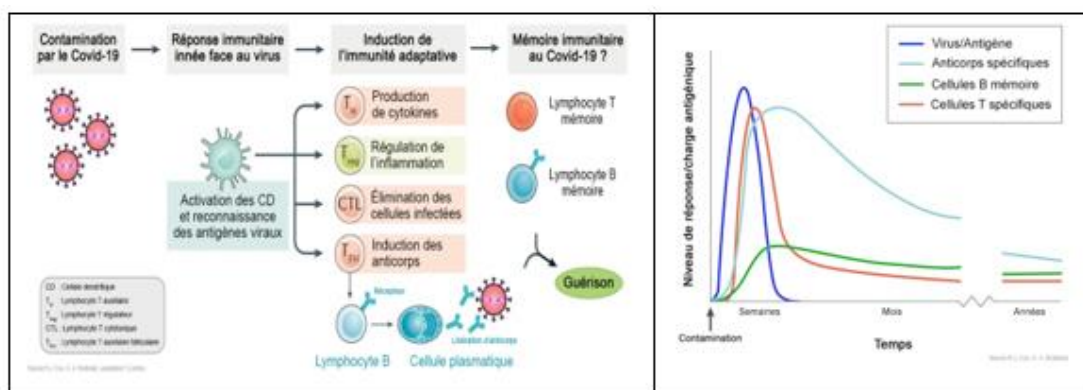


Figure 7: Réponse immunitaire aux infections virales (**Fallet *et al*, 2021**).

3. Réponse immunitaire cellulaire:

Les cellules T jouent un rôle fondamental dans les infections virales : les cellules T CD4 fournissent une aide aux cellules B pour la production d'anticorps et coordonnent la réponse des autres cellules immunitaires, tandis que les cellules T CD8 tuent les cellules infectées pour réduire la charge virale de l'infection. La CPA présentera l'antigène du SARS-CoV-2 aux cellules T-helper CD4+ via le CMH (*Complexe Majeur d'Histocompatibilité*) de classe 1 conduisant à la libération de l'IL-12 comme molécule co-stimulatrice, stimulant d'avantage l'activation des cellules Th1 qui

sécrètent du GM-CSF (*Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor*), produisant encore plus de monocytes CD14+CD16+ avec des taux élevés d'IL-6 (**figure 08**). L'augmentation de la sous-population de monocytes CD14+IL-1 β + favorise la production accrue d'IL-1 β . Ainsi, dans le cas d'infection par le SARS-CoV-2, les cellules Th17 produiront de l'IL-17 pour recruter davantage de monocytes, de macrophages et de neutrophiles au site de l'infection et stimuler d'autres cascades de cytokines, telles et chimiokines pro-inflammatoires, notamment IL-1, IL-6, IL-8, IL-21, TNF- β et MCP (*Monocyte chemoattractant protein*)(**Berche, 2021**)

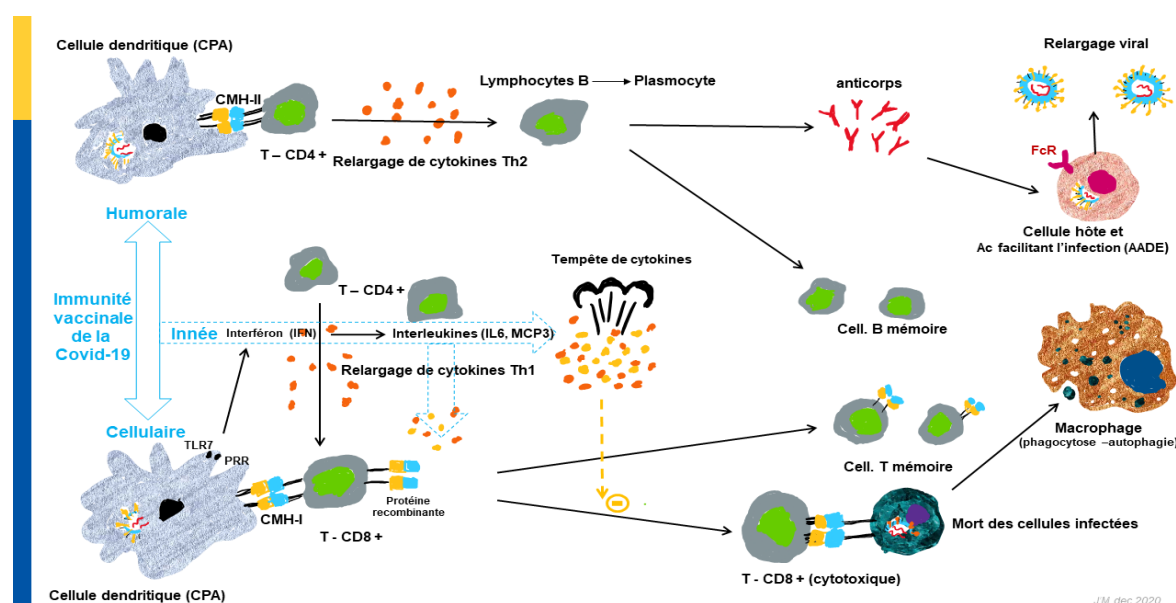


Figure 8: Mécanismes suspectés de la réaction immunitaire dans l'infection par le SARS-CoV-2.(**Berche, 2021**)

4. Phénomène de tempête cytokinique

L'infection par le SARS-CoV-2 et la destruction des cellules pulmonaires déclenchent une réponse immunitaire locale, recrutant des macrophages et des monocytes qui répondent à l'infection, libèrent des cytokines et amorcent les réponses immunitaires adaptatives des lymphocytes T et B. Dans la plupart des cas, ce processus est capable de résoudre l'infection. Cependant, dans certains cas, il se produit une réaction qui, dans son ensemble, est appelée «**tempête de cytokines**». L'effet est une lésion tissulaire importante avec une coagulation dysfonctionnelle (**Lelièvre et al., 2020**).

La tempête cytokinique ou le choc cytokinique est considéré comme la cause principale de gravité de la maladie et de la mortalité chez les patients atteints de Covid-19, c'est une réponse inflammatoire systémique non contrôlée fatale, résultant de la libération d'une quantité excessive de cytokines proinflammatoires telles que facteur de nécrose tumorale- α (TNF α), facteur de stimulation des colonies de granulocytes-macrophages (GM-CSF), interleukine-1 (IL-1), interleukine-6 (IL-6), IL-1 β , IL-8, IL-12 et interféron (IFN)- γ . Elle déclenche une attaque sévère du système immunitaire sur les poumons et le corps, induisant un SDRA et une défaillance de plusieurs organes, et finalement entraînant la mort dans des cas graves d'infections par le SARS-CoV-2 sans traitement approprié et dont le protagoniste est l'élévation importante du taux d'IL-6 et de la protéine C-réactive (**Bonny, 2020**).

5. Toxicité virale et manifestations cliniques :

Le SRAS-CoV-2 a un tropisme pour les voies respiratoires, compte tenu de la forte expression de l'ACE2, son récepteur d'entrée, dans plusieurs types de cellules épithéliales des voies respiratoires, y compris les cellules épithéliales alvéolaires de type II dans le parenchyme pulmonaire. Plus tard dans l'évolution de la maladie, une réplication virale peut se produire dans les voies respiratoires inférieures, qui se manifestent dans les cas graves comme la pneumonie et le SDRA. Des études histopathologiques ont rapporté un organotropisme du SRAS-CoV-2 au-delà des voies respiratoires, y compris un tropisme rénal, myocardique, neurologique, pharyngien, et gastro-intestinal. Le mécanisme de propagation extra pulmonaire du SRAS-CoV-2, hémotogène ou non, reste insaisissable (**figure 9**) (**Imzourh, 2022**).

L'infection au SARS2-CoV-2 va produire 2 types d'Immunoglobulines : des IgM spécifiques qui durent 12 semaines, et des IgG d'une durée plus longue. En plus, l'exposition au virus permet la synthèse des cellules mémoires CD4 et CD8 qui peuvent durer jusqu'à 4 ans.

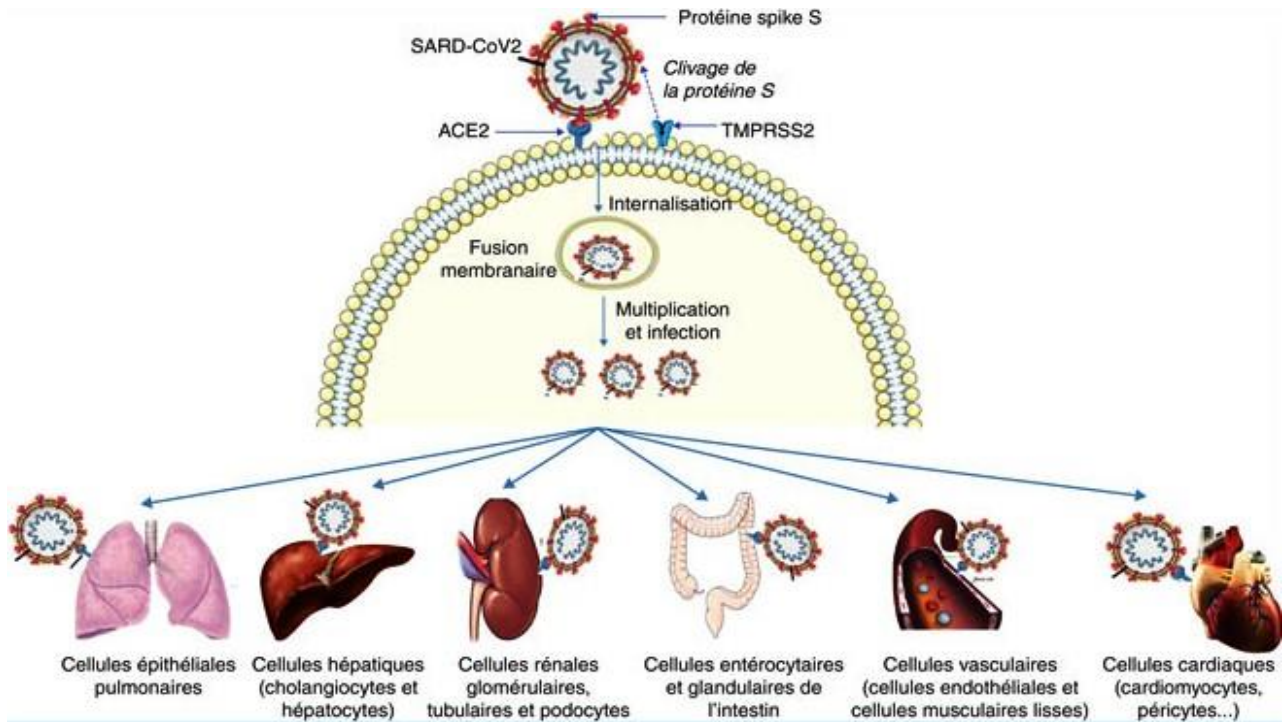


Figure 9: Mécanismes physiopathologiques du SARS-COV-2. (Imzourh, 2022).

5.1. Manifestations respiratoires :

La pneumopathie semble être la manifestation de l'infection la plus fréquente, caractérisée principalement par de la fièvre, une toux généralement sèche, une dyspnée et des infiltrats bilatéraux à l'imagerie thoracique. Il n'y a pas de caractéristiques cliniques spécifiques permettant de distinguer de manière fiable le COVID-19 des autres infections respiratoires virales (Lelièvre *et al*, 2020).

5.2. Manifestations digestives :

Plusieurs études convergent depuis peu, dans la description des signes digestifs liés à COVID-19. Les différentes manifestations décrites sont : l'anorexie rapportée dans 10 à 41 % des cas, les nausées, les vomissements la diarrhée chez 1 à 14% des cas,. Des douleurs abdominales auraient été rapportées chez près de 2% des patients (Imzourh, 2022).

5.3 Manifestations ORL :

Une augmentation des consultations médicales pour anosmie/agueusie sans obstruction nasale a également été rapportée dans le contexte de la pandémie provoquée par le SARS-CoV-2. Ces troubles de l'odorat surviennent soit avant l'apparition des symptômes généraux et ORL (dans 12% des cas), soit pendant (65% des cas) ou soit après (23% des cas) (**Zhengli, 2021**).

5.4 Risque thrombotique :

Les mécanismes physiopathologiques pouvant prédisposés à la survenue d'événements thrombotiques sont probablement multifactoriels. Les patients avec COVID-19 peuvent combiner plusieurs facteurs de risque thrombotiques (un âge potentiellement élevé, une mobilisation réduite, un état infectieux et une décompensation respiratoire). D'autre part, la tempête de cytokines proinflammatoires à valence procoagulante, le SDRA, l'hypoxie, et peut-être l'action directe du virus sur les cellules endothéliales, engendrent une activation majeure de la coagulation, avec taux de facteurs VIII extrêmement élevés. Depuis le début de la pandémie, une élévation inhabituelle des taux de **D-dimères (DD)** a été observée, surtout chez les patients admis dans les unités de soins intensifs (USI). La valeur des DD semble avoir une valeur pronostique en étant plus élevée chez les patients qui meurent que chez ceux qui survivent. (**Cacini et al., 2020**).

- Les complications thrombo-emboliques veineuses semblent être fréquentes. Il s'agit de:
- thromboses veineuses profondes (TVP) des membres inférieurs,
- d'embolies pulmonaires (EP),
- de thromboses sur cathéters.

La thrombose est le plus souvent observée chez les patients des unités de soins intensifs présentant un cumul de facteurs de risque: l'alitement et l'obésité, inflammation majeure, cathéters veineux centraux, paralysie musculaire induite par la sédation.

5.5 Manifestations cardiaques

Plusieurs études confirment des observations antérieures suggérant que les maladies cardiovasculaires sous-jacentes sont des facteurs de risque indépendants de décès à l'hôpital chez les patients hospitalisés atteints de COVID-19. Les atteintes cardiovasculaires rapportées en cas d'infection de COVID-19 regroupent des lésions myocardiques, des syndromes coronariens aigus, des troubles du rythme, des complications thromboemboliques veineuses et des insuffisances cardiaques. (**Tran et Pardo 2020**).

5.6 Manifestations neurologiques :

Le terme de neuro-Covid désigne l'ensemble des atteintes du système nerveux associées à l'infection par Sars-CoV-2, et regroupe des entités variées. Elles touchent 8 à 13 % des patients hospitalisés pour Covid-19, avec une prévalence estimée de 9/1 000 patients infectés en population générale. Les manifestations neurologiques associées à la COVID 19 sont généralement bénigne, principalement des céphalées observées en moyenne dans 25% des cas et des étourdissements dans environ 10 à 15% des cas. Une altération de la conscience (sommolence, confusion, coma) peut aussi être présente lors de l'admission des patients à l'hôpital, et est généralement associée à un mauvais pronostic (**Meppiel É. 2021**).

5.7 Manifestations endocrinologiques :

Des manifestations cliniques tels que des taux de glycémie anormaux, une cétose euglycémique et une acidocétose diabétique, ont été notées chez des patients hospitalisés avec COVID-19.

5.8 Manifestations rénales :

La COVID-19 est une affection due à un virus à ARN, le SARS-CoV-2. Elle se caractérise par une atteinte touchant essentiellement l'appareil respiratoire. Les patients atteints d'une COVID-19 sévère risquent de développer des lésions rénales, se manifestant le plus souvent par une insuffisance rénale aiguë (IRA), qui est probablement multifactorielle dans le cadre d'une

hypervolémie, d'une lésion médicamenteuse, et peut-être d'une cytotoxicité directe du virus lui-même (**Burtey et Sallée, 2021**). Quant aux anomalies urinaires au cours du COVID-19, celles-ci sont retrouvées avec une incidence élevée (protéinurie 43 %, hématurie 27 %) à l'admission hospitalière. (**Kissing et Pruijm, 2020**).

6. Prélèvements réalisés pour le diagnostic d'une infection à SARS-CoV-2

Les prélèvements biologiques effectués afin d'établir le diagnostic dépendent principalement de la phase de l'infection :

Au stade précoce de l'infection, on utilise les échantillons naso- ou oropharyngés obtenus par écouvillonnage profond du nez ou de la gorge. Le préleveur doit se protéger complètement avant de procéder doit en portant un masque FFP2, des lunettes ou une visière de protection, des gants doublés, une blouse et une surblouse à usage unique à manches longues, et des protèges chaussure. D'autre part, il faut se laver les mains avant et après le geste pour éviter les contaminations nosocomiales. Le prélèvement nasopharyngé profond peut s'avérer un peu désagréable pour le patient ; il reste néanmoins le plus largement utilisé, le plus sensible notamment chez les sujets symptomatiques suspects de COVID-19 (**Kassimi, 2021**).

Au stade de la pneumonie virale, il est nécessaire d'utiliser des expectorations induites (sans salive) chez les patients non intubés, et chez les patients en soins intensifs, une aspiration trachéale ou un lavage bronchoalvéolaire est primordiale. Dans de nombreux cas, estimé à environ 30%, l'ARN viral est détecté dans les échantillons respiratoires profonds, sans être amplifié dans les échantillons oro- ou naso-pharyngés.

On peut également détecter le virus dans le sang et les selles, en particulier lors des infections sévères (**Youssef, 2022**). Cependant, même si la teneur en ARN viral est élevée, rien ne prouve que le virus détecté ici son inactivité. Aucun danger de transmission du virus SRAS-CoV-2 par le sang ou les matières fécales n'a été évoqué ; l'excrétion du virus par les selles même continue chez certains patients même après la disparition des symptômes. (**Ouled ali, 2021**)

7. Diagnostic

Le diagnostic virologique de l'infection à SARSCoV-2 se base sur la combinaison de deux types d'approches :

Directe, qui s'intéresse à repérer le virus ou ses composants (ARN et protéines) dans divers échantillons biologiques : dans le cas du SARSCoV-2, ce sont les techniques de RT-PCR (reverse transcriptase polymerase chain reaction) en temps réel qui ont en premier lieu été exploitées pour caractériser l'existence du génome viral, particulièrement dans les sécrétions respiratoires, mais aussi dans le sang et les selles ; dernièrement, se sont ajoutés d'autres tests directs repérant le génome (tests moléculaires) ou les protéines (tests antigéniques) du virus (**Inzourh, 2022**).

Indirecte, qui se base sur la mise en évidence d'une réponse immunitaire humorale (anticorps) engendrée par l'hôte au cours de la Covid-19 (**Lahnikate, 2021**).

7.1 Technologies de détection des acides nucléiques :

Les trois technologies de détection des acides nucléiques les plus utilisées pour la détection virale sont ; la réaction en chaîne par polymérase quantitative en temps réel (RTqPCR), le séquençage à haut débit et l'amplification isotherme médiée par boucle ou LAMP. Cependant, l'application de la technologie de séquençage à haut débit dans le diagnostic clinique est limitée dans la situation actuelle de la pandémie en raison de sa dépendance à l'équipement et de son coût élevé. Par conséquent, la RT-PCR constitue la référence pour le diagnostic de l'infection actuelle par COVID-19, elle est considérée comme la méthode la plus courante et la plus directe de détection du SARS-CoV-2 à partir d'échantillons respiratoires (**Fallet et al., 2021**).

7.1.1 La RT-PCR

Le diagnostic de la COVID-19 repose sur la recherche directe qualitative du génome viral en utilisant la technique analytique de RT-PCR. Après avoir publié la séquence complète du génome du SARS-CoV-2 en janvier 2020 sur internet, des tests moléculaires ciblant différentes régions du génome (codant principalement pour l'ARN polymérase ARN-dépendante et les protéines de structure : S, M, E et N) ont été développés afin de détecter le génome viral dans les produits biologiques (**Imzourh, 2022**).

Ces techniques sont fondamentalement basées sur le principe de la RT-PCR en temps réel qui consiste en 3 étapes comme indiqué sur la figure 9 :

1. l'extraction des acides nucléiques de l'échantillon.
2. la transcription inverse des ARN présents en ADNc (ADN complémentaire) grâce à l'utilisation d'une enzyme : la reverse transcriptase (RT).
3. l'amplification du génome viral (ADNc), en utilisant des amorces spécifiques de certains gènes.

7.1.1.1 Réalisation pratique

1 a. RNA

RNA consist of Start codon AUG and ends with poly A tail

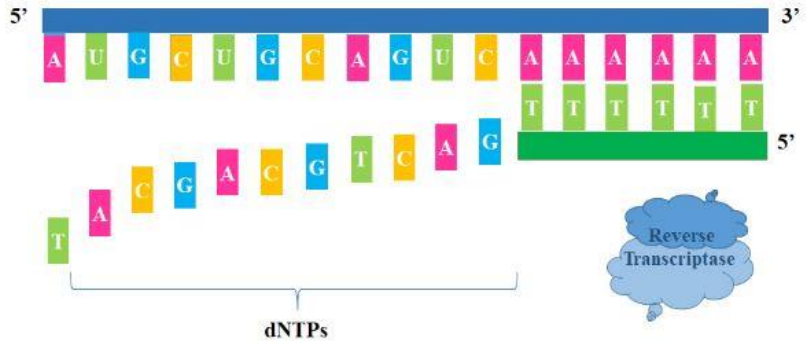


- La transcriptase inverse utilise la matrice d'ARN pour produire un brin d'ADN (simple brin) complémentaire appelé **ADNc** dans un processus connu sous le nom de **transcription inverse**.

b. **Oligo dT Primer**
 Oligo dT Primer is binding to RNA poly A tail

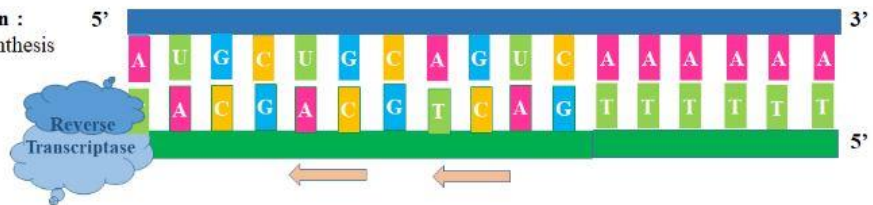


c. **Reverse Transcriptase and dNTPs**



➤ Ensuite, l'**ADN polymérase** est utilisé pour convertir l'ADNc simple brin en ADN double brin. Ces molécules d'ADN peuvent maintenant être utilisées comme matrices pour une réaction PCR afin d'amplifier un fragment d'ADN et détecter indirectement l'ARN présent dans l'échantillon original.

e. **RNA hybrid formation : First - strand cDNA synthesis**



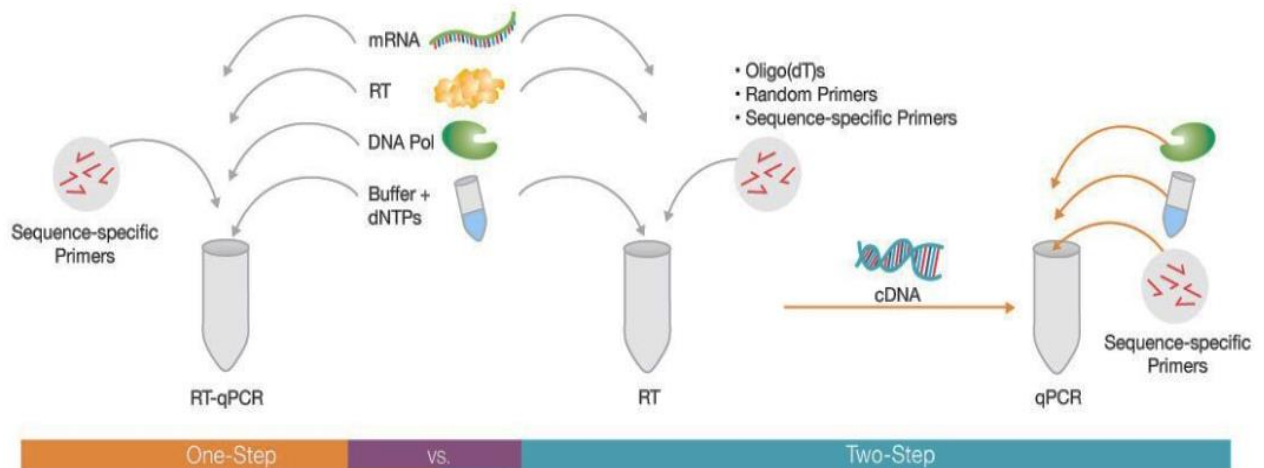
f. **complimentary DNA**



2 a. **Amplification of cDNA with Specific Primers and Taq Polymerase**



- La RT-qPCR peut être réalisée en une ou deux étapes. Les tests one-step combinent la transcription inverse et la PCR dans un seul tube et un seul tampon, en utilisant une transcriptase inverse avec une ADN polymérase. Dans les tests two-step, les étapes de transcription inverse et de PCR sont réalisées dans des tubes séparés, avec des tampons optimisés, des conditions de réaction et des stratégies d'amorçage différents (**Imzourh, 2022**).



- Trois approches différentes peuvent être utilisées pour amorcer les réactions de l'ADNc dans des tests two-step :

1. Les amorces oligo(dT) : des résidus de thymine qui s'hybrident à la queue poly(A) de l'ARN
2. Les amorces aléatoires : de six à neuf bases de long, elles s'hybrident en de multiples points le long du brin d'ARN,
3. Les amorces spécifiques d'une séquence : Des amorces sur mesure qui ciblent une séquence spécifique d'ARN.

La RT-PCR ou qPCR (pour real-time PCR ou quantitative PCR), est une technique analytique d'amplification qui permet une estimation semiquantitative de la charge virale de l'échantillon étudié, elle exprimée par la valeur Ct (cycle threshold), c'est le nombre de cycles de PCR à partir duquel un signal fluorescent est enregistré durant la réaction, il est inversement proportionnel à la charge virale c'est-à-dire que plus la charge virale est importante plus la valeur Ct est faible. Bien que la simple présence du génome viral dans l'échantillon ne puisse dévoiler son pouvoir infectieux, il a été prouvé que l'infectivité du virus contenu dans un échantillon nasopharyngé c'est-à-dire sa capacité à se reproduire, est inversement proportionnel à la valeur de Ct et donc à l'apparition des premiers symptômes (**Anzi, 2021**).

7.2 Techniques de séquençage nucléotidique à haut débit.

Le technique NGS (next generation sequencing) permet le séquençage à haut débit des acides nucléiques présents dans des échantillons environnementaux ou biologiques. Plusieurs plateformes commerciales sont employées dans les laboratoires de biologie moléculaire spécialisés. Néanmoins, leur réalisation nécessite entre 9 et 12 heures sans compter le temps nécessaires pour analyser les données, ce qui limite leur utilisation. Cette technique est d'une grande sensibilité ce qui lui autorise de mélanger plusieurs milliers d'échantillons, à condition de les avoir préalablement identifiés (par RT-LAMP ou une autre technique). Une technique NGS (système Nanopore) a été utilisé dans la détection spécifique de l'infection à SARS-CoV-2 pour un grand nombre d'échantillons a été rapporté. Cependant ces techniques sont employées majoritairement dans la détection et l'identification des variants et leur suivi (**Zhengli, 2021**).

7.3 L'amplification isotherme médiée par boucle ou LAMP (Loop mediated isothermal amplification) :

L'amplification isotherme médiée par boucle (Lamp) est une technique développée par **Notomi *et al.*** en **2000**. C'est une méthode d'amplification visuelle rapide, sensible et efficace des acides nucléiques. Dernièrement, cette méthode a été largement utilisée pour l'isolement du virus de la grippe, du syndrome respiratoire du Moyen-Orient-CoV, du virus du Nil occidental, du virus Ebola, du virus Zika, du virus de la fièvre jaune et d'une variété d'autres agents pathogènes. **Yan-Rong *et al.*, (2020)** ont développé un test Lamp à transcription inverse (RT-Lamp) pour détecter le Sras-CoV-2 chez les personnes atteintes de Covid-19. Dans une étude qui avait pour but de comparer l'efficacité de la RT-PCR et RT-Lamp a révélé que la sensibilité des deux tests est identique, mais la spécificité de cette technique est supérieure à la sérologie (**Jamai *et al.*, 2020**).

7.4 Tests immunologiques

Les tests sérologiques reposent sur la détection d'anticorps antiviraux spécifiques (IgM, IgA, IgG ou anticorps total) dans le sérum du patient, le plasma ou le sang total, la présence d'anticorps montre que la personne a été infectée par le SARS-CoV-2, quelle que soit la gravité des symptômes ou même en l'absence de

symptômes (Youssef, 2022). Certains de ces tests sont quantitatifs et automatisés comme les tests Elisa, d'autres se révèlent qualitatifs et de diagnostic rapide tels que les tests immunochromatographiques (ICT) (Hantz, 2020).

7.4.1 Le test immuno-enzymatique (ELISA)

Les tests ELISA correspondent à des tests classiques utilisant comme antigènes cibles la protéine N du Sars-Cov-2 ou le domaine extracellulaire de la protéine de surface S. Il s'agit d'une technique de détection immuno-enzymatique réalisée en laboratoire qui a pour effet de rendre visible une réaction antigène-anticorps par une réaction colorée produite par l'action d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps sur un substrat (figure 10 et tableau 02). La détection devient spécifique en utilisant des anticorps monoclonaux et la réalisation d'une gamme parallèle permet de quantifier les anticorps du patient présents dans le sang (bag, 2021).

Le test ELISA comporte quatre étapes principales (Figure 11):

- ✓ **Fixation de l'antigène** : L'antigène spécifique à l'anticorps ; incubé sur une plaque de micro-titration; il va se fixer de manière électrostatique au fond des puits, les antigènes non fixés sont enlevés après le lavage (cette étape peut être dépasser en utilisant des Kit standardisé prêt à l'emploi vendu avec des plaques avec des puits où est fixé préalablement l'Ag).
- ✓ **Fixation de l'anticorps à doser** : après ajout et incubation du sérum contenant l'anticorps à doser et des standards qui contiennent des concentrations connus d'anticorps, les anticorps spécifiques vont se fixer aux antigènes. Après le lavage des puits les anticorps non fixés vont être enlevés.
- ✓ **Fixation de l'anticorps de détection (conjugué)** : après ajout et incubation d'un anticorps secondaire couplé à une enzyme, un anti-IgG va reconnaître l'anticorps primaire. Les anticorps secondaires non fixés sont enlevés après le lavage.
- ✓ **Révélation** : la réaction est positive (présence de l'anticorps recherché) si après l'incubation d'un substrat spécifique à l'enzyme utilisée, va être transformé et induire une coloration visible à l'oeil nu et dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'anticorps présent dans le sérum et qui sera quantifiable en DO par un spectrophotomètre.

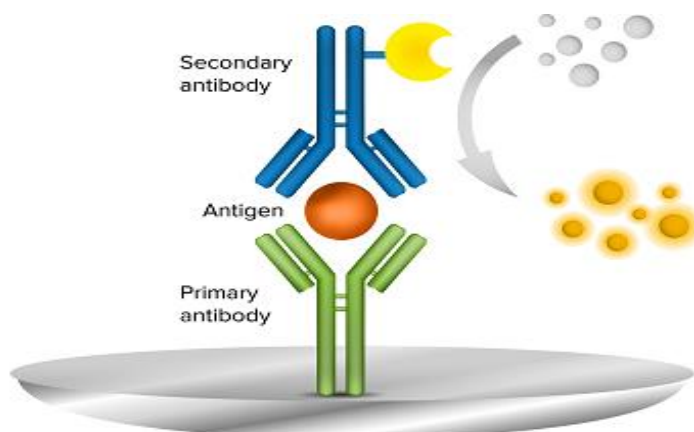


Figure 10: Dosage ELISA de type sandwich (bag, 2021).

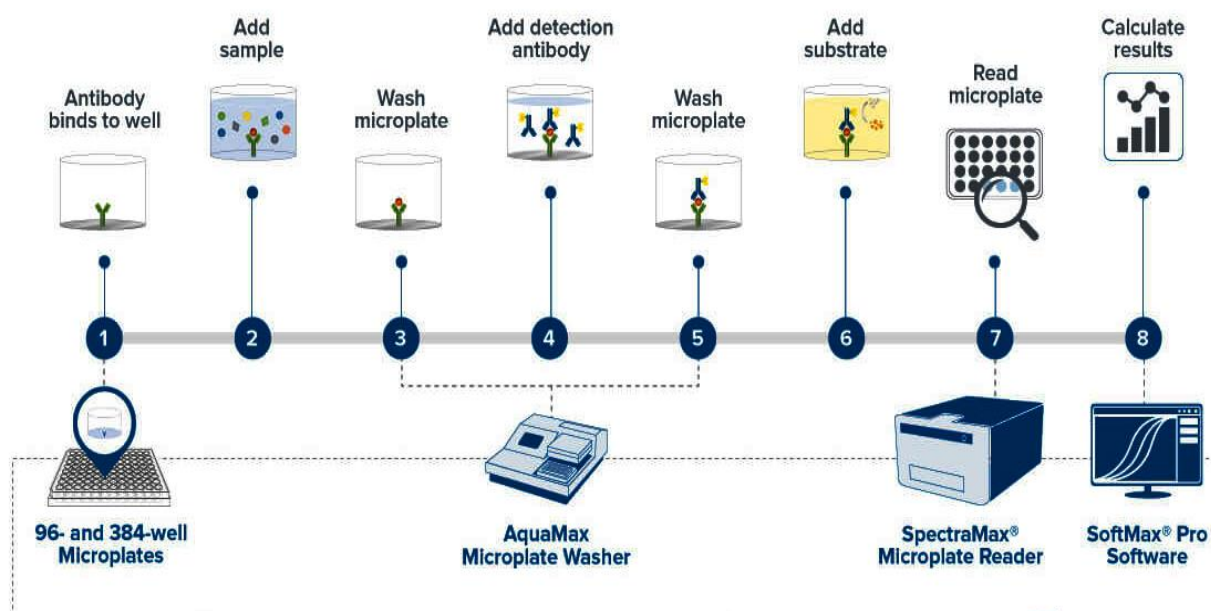


Figure 11: Étapes pour exécuter un dosage ELISA de type sandwich (bag, 2021).

Tableau 2 : Caractéristiques des tests de dépistage de la Covid-19.

Examen	Échantillon	Délai et fenêtre de détection	Sensibilité	Spécificité	Délai de réponse
RT-PCR	Sécrétions nasopharyngées (ou oro-pharyngée)	Positif 2 jours avant le début des symptômes et 7 à 10 jours après	Gold Standard 80-90 %	100 %	24 heures
RT-LAMP	Sécrétions salivaires		84 %	92 %	40 minutes
Tests Antigéniques	Sécrétions nasopharyngées	4 premiers jours après le début des symptômes	66-74 % Sensibilité baisse au-delà de 4 jours	93-99 %	30 minutes
Test sérologique en laboratoire	Prise de sang, sérum	15 jours après les symptômes	Dépendante du délai de réalisation 90 % à partir de J7, 100 % à partir J14	>98 %	4-6 heures
Test sérologique rapide d'orientation diagnostique (TROD)	Sang total au bout du doigt	15 jours après les symptômes	90 95 %	98 %	20 minutes Disponible en ville

7.4.2 Test rapide de détection d'anticorps (TROD)

Le test détecte la présence d'anticorps générés par le patient contre le SRAS-CoV-2, le virus qui cause la maladie COVID-19. Le test peut détecter deux types d'isotypes d'anticorps : IgG et IgM. Il existe plusieurs types de tests mais le plus courant consiste à fixer des anticorps anti-IgG et IgM humaines sur la surface de la cassette et de coupler un antigène du virus avec des particules d'or colloïdal (**figure12**). Si l'échantillon du patient contient des anticorps anti-SARS-CoV-2 (**tableau 03**), alors ces anticorps se fixeront à l'antigène présent dans la zone de conjugaison de la cassette et le complexe formé migrera jusqu' à l'anti-IgG et/ou IgM humaines fixés sur la membrane. On verra alors apparaître une bande colorée

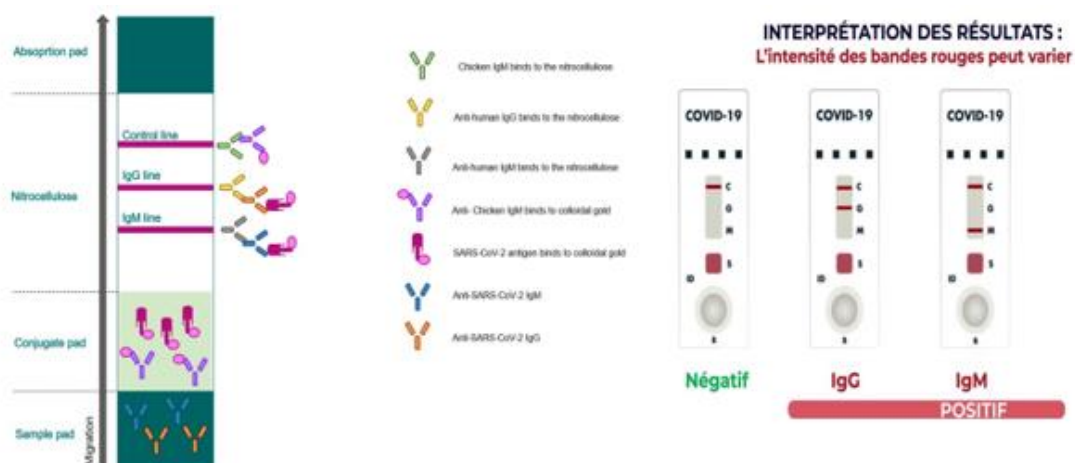


Figure 12 : illustration d'un test rapide de detection de covid (Lahnikat, 2021).

Tableau 3 : Résultat et interprétation du test. (Lahnikat, 2021).

Resultats	Interprétation
IgM+ / IgG+	Infection récente au SARS-CoV-2
IgM+ / IgG-	Infection récente au SARS-CoV-2
IgM- / IgG+	Infection antérieure au SARS-CoV-2
IgM- / IgG-	Pas d'infection ou pas d'anticorps détectables pendant le début de l'infection

7.5 Microscopie électronique :

Le laboratoire Rocky Mountain (RML) du *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (Niaid), était le premier laboratoire à publier les premières images du nouveau virus SARS-CoV-2 après l'analyse d'un échantillon issu d'un patient américain.

L'image est une combinaison de deux techniques : *la microscopie électronique à balayage* (MEB), qui visualise la surface et la forme d'un échantillon en détectant les électrons qui rebondissent, et *la microscopie à transmission* qui visualise l'organisation et la structure interne du virus. Elle a ensuite été colorisée artificiellement (Lahnikat, 2021).

CHAPITRE III

Les variants du SARS-CoV-2

CHAPITRE III

Les variants du SARS-CoV-2 :

Le SRAS-CoV-25 est responsable de la pandémie de COVID-19. L'analyse des séquences génomiques virales obtenues de cas humains et animaux a permis de retracer ses origines jusqu'aux chauves-souris, bien que les études ne puissent pas encore expliquer comment le virus s'est transmis à l'homme. Le génome de ce virus à acides ribonucléiques (ARN) de 29 903 nucléotides encode 29 protéines connues à ce jour, dont quatre structurelles : spicule (ou spike en anglais), nucléocapside, membrane et enveloppe. Du point de vue génétique, ce virus est relativement stable dans le temps. L'analyse génomique des nombreux variants de la souche de référence (Wuhan-Hu-1), isolée en Chine le 26 décembre 2019, a permis d'estimer que le virus du SRAS-CoV-2 a un taux de mutation situé entre 6×10^{-4} et 1×10^{-3} par position sur le génome par année, soit entre 1,5 et 2,5 mutations dans l'ensemble du génome par mois. (Fellah, 2022).

Les mutations du SRAS-CoV-2 se produisent naturellement lors de la réplication du virus dans les cellules de son hôte. Toutefois, elles apparaissent deux fois moins vite que celles du virus influenza A (responsable de la grippe). Ceci serait dû à une ARN polymérase virale qui possède un mécanisme plus efficace de correction des erreurs. En s'accumulant, les mutations observées par séquençage du génome entier permettent de distinguer différentes lignées virales du SRAS-CoV-2 lors d'analyses phylogénétiques (Lelièvre *et al.*, 2020).

1. Dénominations des différents variants :

Pour faciliter les débats publics sur les variantes, l'OMS a réuni un groupe de scientifiques du groupe de travail de l'OMS sur l'évolution des virus (désormais appelé groupe consultatif technique sur l'évolution des virus), le réseau de laboratoires de référence COVID-19 de l'OMS, des représentants du GISAID, de Nextstrain et de Pango, ainsi que d'autres experts en virologie, en nomenclature microbienne et en communication de plusieurs pays et organismes, afin d'envisager des appellations

faciles à prononcer et non stigmatisantes aux variants. À l'heure actuelle, ce groupe d'experts réuni par l'OMS a recommandé d'utiliser les lettres de l'alphabet grec, c'est-à-dire Alpha, Beta, Gamma, Delta, qui seront plus faciles et plus pratiques à discuter par une audience non scientifique (**figure 13**). (Léon et Morin, 2021).

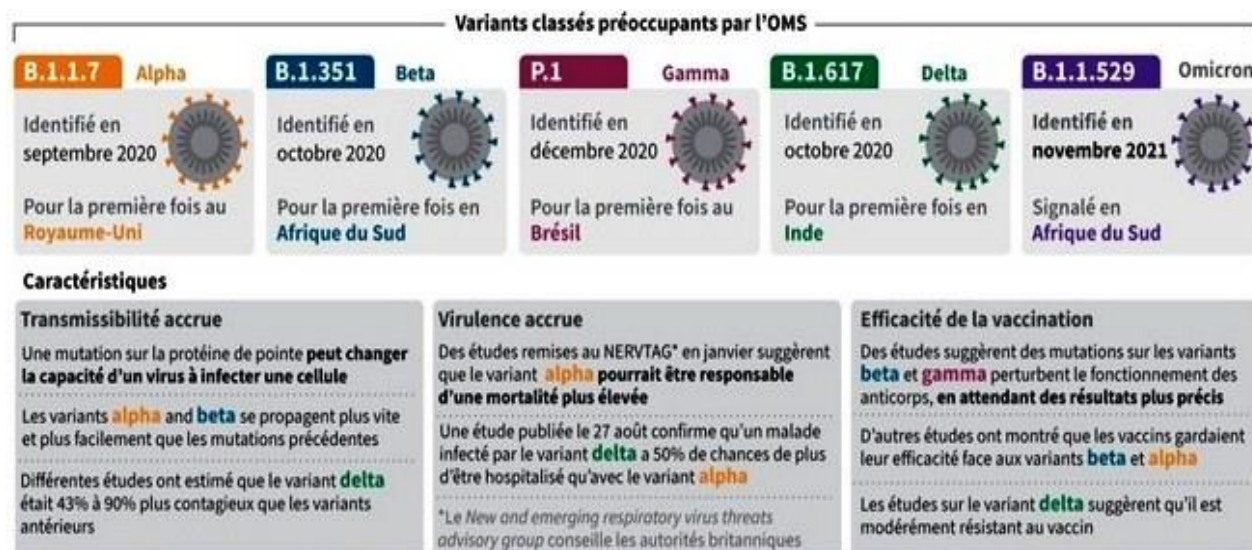


Figure 13: Variants préoccupants (OMS Septembre 2021) (Léon et Morin, 2021).

2. Les variants préoccupants ou VOC (variants of concern) :

Un variant du SRAS-CoV-2 qui répond à la définition d'un VOI et dont il a été établi, par une évaluation comparative, qu'il est en lien avec un ou plusieurs des changements suivants à un degré d'importance pour la santé publique mondiale :

Augmentation de la transmissibilité ou modification préjudiciable de l'épidémiologie du COVID-19 ; Augmentation de la virulence ou modification de la présentation clinique de la maladie ; Diminution de l'efficacité des mesures sociales et de santé publique ou des diagnostics, vaccins et thérapeutiques disponibles (Lelièvre *et al.*, 2020).

2.1 Le variant B.1.1.7 (Alpha)

Le 20 septembre 2020, le premier cas d'infection avec le variant Alpha (appelé alors B.1.1.7 ou variant britannique) a été observé dans le Kent. Il s'agissait d'un virus présentant de multiples mutations (23 au total) dans différentes régions du génome viral, mais essentiellement au niveau de la protéine de spicule. Cette combinaison de mutations représentait une évolution très importante et très rapide du génome viral. Du

fait de cette accélération inattendue, l'hypothèse a été que cette émergence était le reflet d'une évolution cryptique due à une infection chronique chez un patient immunodéprimé. Cette hypothèse n'ajamais pu être prouvée (**Lina, 2022**).

2.2 Le variant B.1.351 (Beta)

Le variant B.1.351 (Beta) est apparue en octobre 2020 en Afrique du Sud, et on a découvert qu'elle présentait 21 mutations. La mutation E484K a conféré à B.1.351 des capacités d'évasion immunitaire en échappant à la neutralisation des anticorps par le plasma des convalescents et les vaccins. La réponse des anticorps dirigée vers les domaines N-terminal et de liaison aux récepteurs de la protéine spike a été affaiblie. Il existe une possibilité réaliste de réinfection chez les personnes qui ont déjà eu le COVID-19 ou qui ont été vaccinées. Cependant, l'impact de la mutation sur la gravité de la maladie reste inconnu (**Kassimi, 2021**).

2.3 Le variant P.1 (Gamma)

Le variant **P.1 (Gamma)**, apparu en décembre 2020 au Brésil, avait accumulé 17 mutations au moment où il a été identifié dans la population. Trois de ces 17 mutations le rendent résistant aux anticorps neutralisants. Les données suggèrent également que le P.1 est deux fois plus transmissible que le virus de type sauvage, l'étude prévient que ces résultats ne s'appliquent qu'à la cohorte spécifique de Manaus et ne peuvent être généralisés à aucune autre population (**Lina, 2022**).

2.4 Le variant B.1.617.2 (Delta)

Le variant B.1.617.2 (Delta), détecté pour la première fois en Inde en octobre 2020, il présente 13 mutations, dont quatre entraînant des substitutions dans le gène codant pour la protéine spike du virus. Ces mutations sont responsables d'une transmissibilité élevée, d'une affinité plus forte de la protéine S pour le récepteur ACE2 et d'une diminution de la capacité de reconnaissance du système immunitaire et d'une augmentation de l'infectivité au niveau cellulaire du variant (**Lelièvre et al., 2020**).

2.5 Le variant B.1.1.529 (Omicron)

Le 24 novembre 2021, un nouveau variant du SRAS-CoV-2, B.1.1.529, a été signalé à l'Organisation mondiale de la santé (OMS), il est identifié pour la première fois au Botswana et en Afrique du Sud. À la mi-décembre 2021. Le 26 novembre 2021, l'OMS a nommé le B.1.1.529 Omicron et l'a classé dans la catégorie des variants préoccupants (VOC). Les chercheurs d'Afrique du Sud ont indiqué que le variant Omicron présentait 50 mutations et que la plupart d'entre elles (plus de 30 mutations)

avaient été signalées dans la protéine spike (protéine S) du SRAS-CoV-2, qui a été utilisée comme cible clé pour la plupart des vaccins disponibles (**Anzi, 2021**).



CHAPITRE IV

**Prise en charge, pistes
thérapeutiques et vaccinales**

CHAPITRE IV

Prise en charge, pistes thérapeutiques et vaccinales

1. Traitement

1.1 Traitement non spécifique

1.1.1 Le traitement symptomatique

Le traitement symptomatique repose tout d'abord sur la prise en charge de l'hyperthermie par du paracétamol et sur une surveillance de l'hydratation. Une récente synthèse des données de pharmaco-vigilance a mis en évidence que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) pourraient aggraver les atteintes infectieuses et provoquer des complications graves, notamment dans le cadre d'infections respiratoires.

Rien n'est démontré Sars-CoV-2, mais le principe de précaution s'applique : les AINS doivent être évités (en dehors de ceux utilisés dans le traitement d'une maladie chronique dont il convient de rediscuter le rapport bénéfice-risque).

1.1.2 L'antibiothérapie:

L'antibiothérapie n'est pas nécessaire pour un cas de Covid-19 simple sans critère de gravité ou de comorbidité, les co-infections bactériennes étant rares. Elle ne sera envisagée qu'en présence d'une pneumopathie nécessitant une prise en charge en raison d'une comorbidité ou d'un facteur de gravité. En réanimation, une céphalosporine de troisième génération associée à un macrolide sera privilégiée, afin de couvrir *Legionella pneumophila* ((Kherabi *et al.*, 2022)).

1.1.3 Corticothérapie :

L'hypothèse de la participation d'une dérégulation cytokinique dans la pathogenèse des lésions pulmonaires du SRAS, la similarité des lésions radiologiques avec une bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), et l'expérience clinique d'une équipe de Hong Kong ont conduit de nombreuses équipes à utiliser une corticothérapie par voie systémique. Son utilisation précoce à haute dose semble être

recommandée par la majorité des auteurs. Les doses proposées vont de 20 à 50 mg/jour à 4 mg/kg/ 8 heures d'hydrocortisone, ou 2 à 4 mg/kg/jour de méthylprednisone. La durée du traitement pourrait être comprise entre 5 et 21 jours. (Lahnikate, 2021)

1.1.4 Oxygénothérapie :

Représente la première ligne de traitement pour le patient Covid 19 avec hypoxémie. L'objectif thérapeutique de l'oxygénothérapie est de maintenir saturation en oxygène (SpO₂) entre 93% et 96% en patients sans pathologie respiratoire sous-jacente et entre 88% et 92% en cas d'insuffisance respiratoire chronique. Les tendances l'administration d'oxygénothérapie varie en fonction flux administrés. Les verres à oxygène conviennent pour débits modestes de 0,5 à 5 l/min. le masque à oxygène pour débits entre 6 à 8 l / min. Dans ce cas, le débit d'oxygène n'a pas d'importance mais la réserve doit être pleine pour permettre au patient de dessiner la plupart de l'air inspiré dans la réserve d'oxygène pur (Hamidi et al. ,2020).

1.2 Traitement spécifique: (Imzourh, 2022)

- Quatre cibles potentielles de traitement se tirent :
 - ✓ L'entrée du virus dans la cellule : des données in vitro évoquent que la chloroquine ou l'hydroxy-chloroquine, en s'affrontant à la glycosylation d'ACE2, pourraient prévenir la pénétration des Sars CoV.
 - ✓ Le clivage et l'assemblage des protéines virales : c'est la piste des inhibiteurs des protéases employés dans le cadre de l'infection au virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (lopinavir spécialement) ;
 - ✓ La réplication virale, en bloquant l'ARN-polymérase qui autorise au virus la possibilité de reproduire son matériel génétique (cette recherche intéresse le remdesivir) ;
 - ✓ La réaction immunitaire liée à la production massive de cytokines : l'hydroxychloroquine à nouveau, les corticoïdes, les interférons (IFN) et le tocilizumab pourraient idéalement être utiles.

1.2.1 Thérapies antivirales

1.2.1.1 Remdesivir

Le remdesivir est également un médicament réutilisé qui a été initialement développé pour le traitement de l'infection par le virus Ebola. Il est considéré comme l'une des options thérapeutiques la plus utilisée contre le SARS-CoV-2. C'est un nouvel analogue nucléosidique ayant été reconnu comme un antiviral potentiel et prometteur contre de nombreux virus à ARN, y compris le SRAS et le MERS-CoV (**Youssef, 2022**).

Le remdesivir, un inhibiteur de l'ARN polymérase ARN-dépendante virale ayant une activité inhibitrice in vitro contre le SARS-CoV-1 et le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV). En outre, dans des études menées chez des primates non humains, le remdesivir initié 12 heures après l'inoculation du MERS-CoV a permis de réduire les taux de virus dans les poumons et les lésions pulmonaires.

Considéré comme l'une des meilleures options thérapeutiques avec une bonne tolérance, le remdesivir fait l'objet de plus de six (6) essais cliniques randomisés, contrôlés, en double aveugle pour évaluer son efficacité. Les résultats de ces essais cliniques pourraient ouvrir la voie à une thérapie antivirale efficace pour une telle maladie infectieuse épidémique (**Kheabi, 2022**)

1.2.1.2 Association remdesivir et diltiazem :

Le remdesivir et le diltiazem, seules et en combinaison a été évalué sur des épithéliums respiratoires humains d'origine nasale et bronchique infectés reconstitués in vitro Les résultats de cette étude montrent une réduction significative de la charge virale dans les épithéliums infectés par le SARS-CoV-2 lorsqu'ils sont traités par le remdesivir. Cet effet est accru lorsque le diltiazem est ajouté en combinaison.

Le remdesivir présente une activité antivirale contre les virus à ARN dont fait partie le SARS-CoV-2. Le diltiazem, lui, est un antihypertenseur. Il a déjà été caractérisé et repositionné afin de stimuler fortement la réponse immunitaire innée antivirale endogène, notamment contre les virus influenza et les pneumovirus. La toxicité chez l'humain de ces deux molécules repositionnées a aussi déjà été évaluée, ce qui permet de réduire considérablement les délais de leur développement clinique pour leur nouvelle indication thérapeutique contre le SARS-CoV-2 (**Imzourh, 2022**).

1.2.1.3 L'association lopinavir / ritonavir :

Ce sont des inhibiteurs de protéase utilisés dans le traitement du VIH et ont montré une activité antivirale lors des récentes pandémies de SRAS-CoV et de MERS-CoV. Ces médicaments ont également prouvé leur efficacité *in vitro* contre le coronavirus en inhibant la réplication du virus (Youssef, 2022)

1.2.1.4 Umifenovir :

Est un médicament approuvé en Russie et en Chine pour la prophylaxie ou le traitement de la grippe et d'autres infections virales respiratoires, l'umifenovir a également montré une activité inhibitrice contre les virus des hépatites B et C. Il peut cibler l'interaction entre la protéine S et l'ACE2 et inhiber la fusion membranaire. Des expériences *in vitro* ont montré qu'il avait une activité contre le SRAS-CoV-2, et les données cliniques actuelles ont révélé qu'il pourrait être plus efficace que le lopinavir et le ritonavir dans le traitement de la COVID-19 (Youssef, 2022)

1.2.1.5 L'ivermectine

Récemment, un autre médicament approuvé par la FDA (Food and Drug Administration), l'ivermectine, a été signalé comme inhibant la réplication *in vitro* du SARS-CoV-2. Les résultats de cette étude indiquent qu'un seul traitement de ce médicament a pu induire une réduction d'environ 5 000 fois de l'ARN viral à 48 h en culture cellulaire. L'un des principaux inconvénients qui limitent l'utilité clinique de l'ivermectine est son potentiel à provoquer une cytotoxicité (Youssef, 2022)

1.22 Les agents immunomodulateurs

1.2.2.1 Le plasma convalescent

Le plasma convalescent est issu de patients guéris de la Covid-19. Il a été suggéré qu'il pourrait permettre une immunité passive par la transfusion d'anticorps dirigés contre le virus Sars-CoV-2. Il a déjà été utilisé dans le cadre d'autres infections respiratoires sévères virales (Sars, grippe H₁N₁ et H₅N₁, etc.) (Matusik *et al.*, 2020).

1.2.2.2 Les immunoglobulines polyvalentes

Les immunoglobulines (Ig) polyvalentes sont des anticorps issus de dons de plasma. Elles sont essentiellement composées d'IgG reconnaissant une large variété d'antigènes. En plus de leur effet neutralisant, elles ont aussi des propriétés immunorégulatrices

via

leur action sur les récepteurs aux Ig sur les surfaces cellulaires. Seules quelques expériences ont été décrites pour le moment dans le cadre de la Covid-19 et une unique étude rétrospective a été publiée (**Kherabi et al., 2022**).

1.2.2.3 Les IFN

Les IFN sont les premières cytokines produites lors d'une infection virale, ils agissent sur l'immunité innée et adaptative. Les IFN recombinants ont été utilisés en association avec la ribavirine chez les patients atteints de Mers et de Sars. Les données *in vitro* sur le Sars-CoV-1 et le Mers-CoV suggèrent une meilleure activité des IFN- β , actuellement indiqués dans la sclérose en plaques, par rapport aux IFN- α , qui ont été recommandés sous forme inhalée par les autorités chinoises dans le cadre de la lutte contre la Covid-19. (**Matusik et al., 2020**).

1.2.2.4 TMPRSS2 comme cible thérapeutique.

L'inhibition de TMPRSS2 par le camostatate, réduit significativement l'infection des cellules par le SARS-CoV-2 *in vitro*. Il s'agit d'une enzyme de la famille des protéases, qui comprend plusieurs domaines structuraux. Le principal, qui est responsable de l'activité protéolytique de la protéine (domaine sérine protéase), coupe la protéine S du virus en de multiples endroits. Il s'agit d'une étape déterminante pour que le SARS-CoV-2 entre dans la cellule. On distingue aussi sur TMPRSS2 un site localisé à proximité du site actif, que l'on qualifie d'exosite, et qui joue un rôle crucial pour aider la protéine S à s'orienter correctement avant arrimage (**Bonny, 2020**).

La TMPRSS2 est une cible thérapeutique intéressante, des expérimentations cellulaires menées par ailleurs ont montré que le virus avait d'importantes difficultés à entrer dans la cellule lorsque TMPRSS2 est inactivée ou bloquée (**Rousseau et al., 2020**).

1.2.2.5 La chloroquine et l'hydroxychloroquine :

Les mécanismes d'action de la chloroquine et de l'hydroxychloroquine sont multiples, particulièrement une alcalisation lysosomiale favorisant une inhibition de la fusion du virus à la surface cellulaire, un blocage de la réplication virale, une modification de glycosylation des protéines (spécialement de l'ACE2) et un effet immunomodulateur (**Lelièvre et al., 2021**).

La chloroquine est un médicament à marge thérapeutique étroite employé dans le cadre des accès palustres. L'hydroxychloroquine est, quant à elle, indiquée dans le lupus et la polyarthrite rhumatoïde. Ces médicaments inhibent la réplication du Sars-CoV-2 *in vitro* à des concentrations difficilement atteignables dans le plasma humain, mais qui le sont possiblement dans le compartiment intracellulaire où se réplique le virus et où il se concentre avec, de plus, une accumulation pulmonaire (**Imzourh, 2022**).

2. Vaccination:

Les vaccins destinés à prévenir l'infection par le SRAS-CoV-2 sont considérés comme l'approche la plus prometteuse pour enrayer la pandémie. La principale cible antigénique à l'heure actuelle est la sous-unité S1 de la protéine Spike, à l'instar des vaccins développés pour le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV, car son exposition membranaire facilite sa reconnaissance par le système immunitaire. De plus, cibler ce site permettrait d'empêcher l'entrée du virus dans les cellules. Cependant, d'autres sites de la protéine Spike ou d'autres protéines non structurales pourraient être de bons candidats. Une fois la cible antigénique définie, plusieurs stratégies vaccinales peuvent être évaluées: vaccination à partir d'ARN, d'ADN, de protéine recombinante, ou de vecteur viral (**Fellahi, 2021**).

2.1 Aperçu sur le développement du vaccin

Comme pour les produits pharmaceutiques, le développement d'un vaccin passe par une évaluation préclinique et quatre étapes cliniques distinctes :

Essais de phase I - Ils sont conçus pour tester l'innocuité du vaccin, bien que l'immunogénicité soit également mesurée ; des études de détermination de la dose sont également souvent incluses.

Essais de phase II - Ils élargissent le profil d'innocuité et l'évaluation de la réponse immunitaire chez un plus grand nombre de participants.

Essais de phase III - Ils sont conçus pour déterminer l'efficacité dans la prévention d'un critère d'évaluation prédéfini, généralement une maladie confirmée en laboratoire. L'efficacité du vaccin en pourcentage est la réduction de l'incidence de la maladie chez ceux qui ont reçu le vaccin par rapport à ceux qui ont reçu le produit témoin et est calculée avec la formule suivante : [(taux d'attaque chez les non-

vaccinés - taux d'attaque chez les vaccinés) /taux d'attaque chez les non-vaccinés] x 100.

Essais de phase IV – (surveillance post-commercialisation) Etudes en cours après l'approbation et l'homologation du vaccin, afin de surveiller les effets indésirables et d'étudier les effets à long terme du vaccin dans la population.

En règle générale, ces étapes se déroulent de manière séquentielle, et chacune d'entre elles prend plusieurs années pour être achevée. Le développement du vaccin COVID-19 s'est accéléré à un rythme sans précédent, chaque étape se déroulant sur plusieurs mois. De plus, dans le cadre de l'initiative du vaccin COVID-19, les études de phase I et II et de phase II et III ont souvent été combinées, avec une transition transparente d'une phase à l'autre (**Fallet *et al.*, 2021**).

Néanmoins, les critères de sécurité restent stricts ; les comités de surveillance et de sécurité des données (Data Safety And Monitoring Committees-DSMC), composés d'experts indépendants en matière de vaccins et de promoteurs d'études, évaluent les événements indésirables signalés dans chaque phase de l'étude clinique et approuvent le passage à la phase suivante.

Différentes approches sont explorées afin de mettre au point un vaccin capable d'induire

une immunité protectrice et durable contre le Sars-CoV-2 (**figure 14**) : acides nucléiques (issus de l'acide désoxyribonucléique [ADN] ou de l'ARN), vecteurs viraux (réplicatifs ou non réplicatifs), pseudoparticules virales, vaccins sous-unitaires, vaccins vivants atténués et virus inactivés.

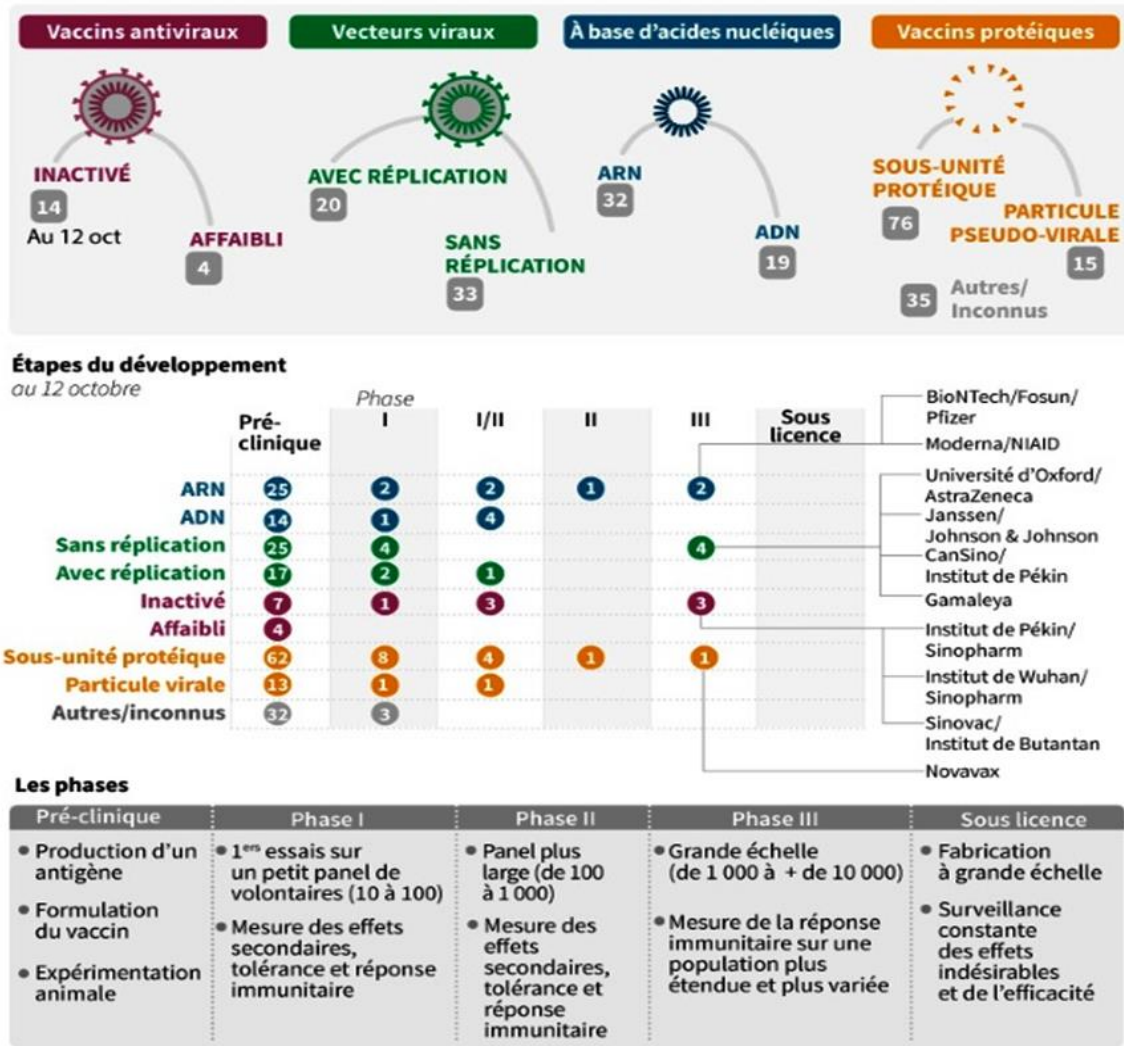


Figure 14: Les différents types de vaccins (Berche, 2021).

2.2 Vaccins inactivés

À l'instar des vaccins contre la grippe, il existe des vaccins constitués de SARS-CoV-2 inactivé chimiquement par la β -propiolactone. La culture du coronavirus, effectuée sur des cellules Vero, nécessite des conditions de laboratoire de sécurité P3 et les rendements de culture sont limités. Ils sont habituellement administrés par injection intramusculaire et associés à un adjuvant tel que l'hydroxyde d'alumine. Les vaccins inactivés ont atteint les essais cliniques de phase III : deux vaccins chinois (25-27), le Coronavac de Sinovac Biotech Ltd et le BBIBP-CorV de SinoPharm, ainsi que le vaccin indien Covaxin de Bharat Biotech. Ces vaccins produisent une bonne réponse en anticorps neutralisants contre l'ensemble des antigènes du SARS-CoV-2 et devraient conférer une certaine protection contre le Covid-19 (Berche, 2021).

2.3 Vaccins à vecteur adénovirus :

Les vaccins à vecteur adénovirus sont des stratégies prophylactiques prometteuses contre les infections à COVID-19. Les adénovirus sont des virus à ADN double brin non enveloppés. Ces virus peuvent être considérés comme la cause d'infections humaines non sévères et résolutes, notamment des infections oculaires et des voies respiratoires. Les vaccins à Ils sont administrés par voie musculaire, pénètrent les cellules dendritiques des vaccinés qui expriment la protéine virale ce qui induit une forte réponse immunitaire humorale. Ils ne nécessitent pas la manipulation de virus vivant pour leur production. On a une bonne expérience de cette approche déjà utilisée pour un vaccin contre le virus Ebola (Janssen/Johnson & Johnson) avec un adénovirus (**figure 15**). L'avantage le plus important de l'utilisation des adénovirus comme vecteurs pour l'administration de médicaments et de gènes et le développement de vaccins est leur incapacité à s'intégrer dans le génome humain, ce qui garantit la sécurité après administration. Ces vaccins ont le potentiel de délivrer des gènes ciblés aux cellules, ce qui entraîne une transduction efficace des gènes et l'induction d'une réponse immunitaire (**figure 16**). (**Fellah, 2021**)

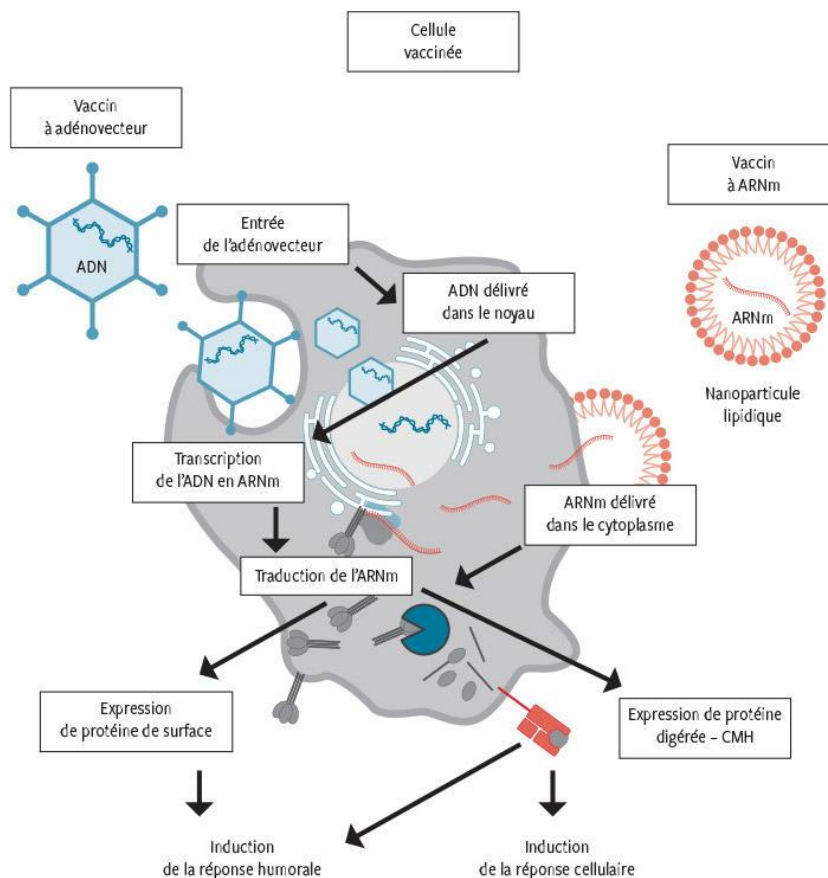


Figure 15: Les mécanismes d'action des vaccins à adénovecteur et des vaccins à ARNm (**Fellah, 2021**)

2.4 Vaccins à ARN :

La première utilisation d'ARN messager (ARNm) conduisant à la synthèse d'une protéine chez l'animal de laboratoire remonte à 1990 (**Wolff et al., 1990**). Toutefois, au cours des trois dernières décennies, cette approche a rencontré plusieurs écueils : a) l'ARN nu ne peut pas spontanément pénétrer les cellules, notamment après injection intradermique ; b) il est particulièrement instable et rapidement dégradé par les RNases tissulaires. Des innovations technologiques majeures au cours de la dernière décennie ont permis de surmonter ces obstacles. Une première étape de mise au point de vaccins ARN contre le SARS-CoV-2 a été de synthétiser l'ARNm viral codant pour la protéine Spike (**(figure 16) Alberer et al., 2017**). Les premières publications sur les vaccins ARN contre des agents infectieux remontent à 2012, d'abord pour un vaccin contre la grippe, puis contre la rage. Ils ont été aussi utilisés contre le virus Zika chez les primates, puis dans des essais cliniques. Toutes ces recherches ont profité pour la mise au point d'un vaccin ARNm contre le SARSCoV-2. Les deux vaccins ARNm en cours d'utilisation conditionnelle à grande échelle sont le vaccin mRNA-1273 de Moderna et le vaccin BNT162 (Comirnaty®) de BioNTech-Pfizer. Le vaccin mRNA-1273-45 de Moderna est constitué d'un ARNm porteur de l'information d'un fragment du gène *spike* codant uniquement le domaine RBD de la protéine S. Il induit chez les macaques un fort taux d'anticorps neutralisants, protégeant les animaux d'une surinfection, avec élimination du virus des voies aériennes supérieures en un à quatre jours (**(Abrouzi, 2021).**)

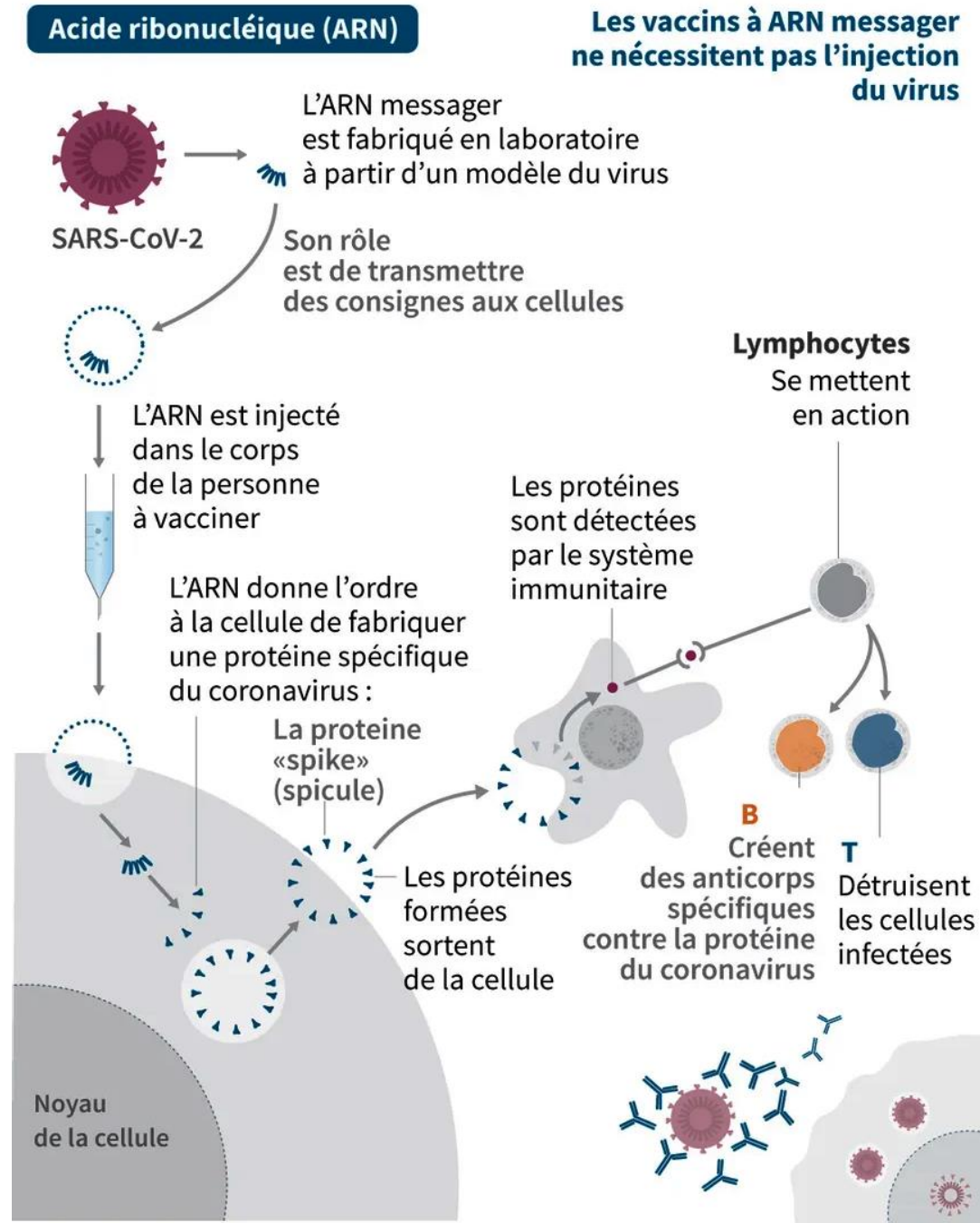


Figure 16: Vaccin à base d'ARN messager (vaccins de Pfizer-BioNTech et de Moderna). (Fellah, 2021)

2.5 Vaccins protéiques recombinants :

Certains vaccins utilisent la protéine Spike ou son domaine RBD (*Receptor Binding Domain*). Le gène S, porté dans des vecteurs plasmidiques ou viraux (*Baculovirus*), est transfecté dans des cellules d'insectes, de mammifères, de plantes, dans des levures ou encore des bactéries (*Escherichia coli*). Ainsi peut-on produire en grandes

quantités la protéine Spike purifiée, que l'on peut éventuellement incorporer dans des particules dites *Virus-Like Particles* (VLP).

L'avantage de ces vaccins est qu'ils peuvent être réalisés sans manipulation du virus lors du processus de production. De plus, l'utilisation des vaccins protéiques recombinants bénéficie d'une expérience considérable pour la production, car ils ont été largement déployés dans le passé, notamment pour différents vaccins antigrippaux licenciés. Toutefois, un vaccin protéique contre le COVID-19, dont l'utilisation chez l'homme est actuellement autorisée dans 32 pays, est le vaccin NVXCoV2573 de Novavax (Gaithersburg, MD, É.-U) (Peiffer *et al.*, 2021).

3. Pistes vaccinales utilisées pour le développement des vaccins contre le SARS-CoV-2:

Les vaccins destinés à prévenir l'infection par le SRAS-CoV-2 sont considérés comme l'approche la plus prometteuse pour enrayer la pandémie. La principale cible antigénique à l'heure actuelle est la sous-unité S1 de la protéine Spike, à l'instar des vaccins développés pour le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV, car son exposition membranaire facilite sa reconnaissance par le système immunitaire. De plus, cibler ce site permettrait d'empêcher l'entrée du virus dans les cellules. Cependant, d'autres sites de la protéine Spike ou d'autres protéines non structurales pourraient être de bons candidats. Une fois la cible antigénique définie, plusieurs stratégies vaccinales peuvent être évaluées: vaccination à partir d'ARN, d'ADN, de protéine recombinante, ou de vecteur viral (Kassimi, 2021).

Différentes approches sont explorées afin de mettre au point un vaccin capable d'induire

une immunité protectrice et durable contre le Sars-CoV-2): acides nucléiques (issus de l'acide désoxyribonucléique [ADN] ou de l'ARN), vecteurs viraux (réplicatifs ou non réplicatifs), pseudoparticules virales, vaccins sous-unitaires, vaccins vivants atténués et virus inactivés. (Fallet *et al.*, 2021).

4. Les vaccins autorisés dans le monde:

À ce jour, plus de 11,8 milliard de doses de vaccins anti-Covid-19 ont été administrées dans le monde, soit 60,4 % de la population mondiale est complètement vaccinée, mais l'avancement des campagnes reste très variable selon les pays et les

régions du monde. On compte désormais 16 vaccins en service dans le monde (**figure 17**). La grande majorité est à double dose, excepté le vaccin Johnson & Johnson, qui est administré à dose unique. Ce vaccin est actuellement utilisé aux États-Unis, Brésil, Afrique du Sud, et dans de nombreux pays européens (**Fallet et al., 2021**).

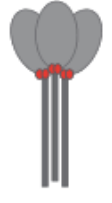


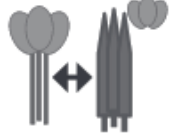


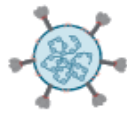
Compagnie (nom du vaccin)	Cible antigénique	Type de vaccin	Nb de doses	Protection	Principaux excipients	Phase clinique
Pfizer/BioNTech (BNT162b1, Comirnaty)	 Protéine S préfusionnelle stabilisée	 NPL-ARNm	2	> 90 %	PEG-2000	3
Moderna (mRNA-1273)				> 90 %	PEG-2000 trométhamine	
CureVac (CVnCoV)				n.d.	PEG-2000	
Novavax (NVX-CoV2373)		 NP – protéine + adjuvant	1	-90 %	Polysorbate 80	
Janssen (Ad26.COV2.S)	60-70 %					
AstraZeneca (ChAdOx1 nCoV-19)	 Protéine S native	 Adénovecteur	2	60-70 %	Polysorbate 80 trométhamine	
Gamaleya (Gam-COVID-Vac, Sputnik V)				> 90 %		
Sinovac	 Virus entier	 Virus entier inactivé + adjuvant		n.d.	n.d.	

Figure 17: Récapitulation des principales caractéristiques des vaccins les plus utilisés dans le monde. ARNm : acide ribonucléique messager ; NP : nanoparticule ; NPL : nanoparticule lipidique ; PEG : polyéthylène glycol ; n d : non disponible (**Fallet et al., 2021**).

4.1 Vaccin BBIBP-CorV (Sinopharm - China National Pharmaceutical Groupe)

ce vaccin est fabriqué par l'Institut des produits biologiques de Pékin, c'est un vaccin inactivé contre la maladie, qui stimule le système immunitaire humain sans aucun risque de provoquer l'infection. Une fois les particules virales inactivées introduites dans le système immunitaire de l'organisme, elles stimulent la production d'anticorps et préparent le corps à l'infection par le SRAS-CoV-2. Ce vaccin est sans conservateur et adjuvé avec l'hydroxyde d'al pour stimuler la réponse du système immunité (**Kassimi, 2021**).

➤ **Mode d'administration :**

Administration en 2 doses (0,5 ml par dose) à un intervalle recommandé de 3 à 4 semaines par voie intramusculaire : le muscle deltoïde préférablement.

➤ **Conservation :**

Stockage au réfrigérateur dans l'emballage d'origine à l'abri de la lumière et à une température comprise entre +2 et +8 °C.

4.2 Vaccin Coronavac (Sinovac)

Le vaccin de Sinovac est fabriqué par l'entreprise basée à Beijing : Sinovac Life Sciences Co. Ltd., affiliée à Sinovac Biotech, est un vaccin inerte à virus entier inactivé basé sur le principe de l'inoculation des cellules de rein de singe vert africain (cellules Vero) avec le SRAS-CoV-2, après une période d'incubation, le virus subit une inactivation par la β -propiolactone, concentré, purifié, et enfin absorbé sur de l'hydroxyde d'aluminium. Le complexe d'hydroxyde d'aluminium a ensuite été dilué dans une solution de chlorure de sodium, de solution saline tamponnée au phosphate et d'eau avant d'être stérilisé, filtré et prêt à être injectable (Youssef, 2021).

➤ **Mode d'administration**

Administration en deux doses de 0.5ml chacune à un intervalle de deux à quatre semaines par voie intramusculaire dans le deltoïde

➤ **Conservation** Les flacons doivent être conservés à une température comprise entre +2 et +8 °C et à l'abri de la lumière.

4.3 Vaccin AZD1222 (Oxford University–AstraZeneca)

Le vaccin AstraZeneca est produit conjointement par AstraZeneca, un groupe pharmaceutique Suedo-Britannique et l'université d'Oxford. C'est un vaccin recombinant basé sur un vecteur viral non répliquatif, il s'agit d'un adénovirus simien prélevé sur le chimpanzé (ChAdOx1), à qui on a retiré les gènes capable de se dupliquer chez le sujet vacciné, par manipulation génétique, de sorte qu'il est peu, voire pas du tout offensif pour l'homme, ces gènes sont alors remplacés par ceux du SARS-CoV-2 qui « codent » pour la protéine S (la spicule). De cette manière, après l'injection du vaccin, le virus vecteur du chimpanzé pénètre dans la cellule hôte et les force à fabriquer la protéine S. L'organisme de l'hôte reconnaît la protéine S comme étrangère et produit des anticorps pour neutraliser le virus (Alberer *et al.*, 2017).

Cette technologie de fabrication présente de nombreux avantages parmi lesquels :

- ✓ On n'a pas besoin de manipuler le SARS-CoV-2 durant la production du vaccin ;
- ✓ La réponse immunitaire sera plus puissante et plus complète puisque c'est notre propre organisme qui réalise la synthèse de la protéine;
- ✓ AstraZeneca maîtrise la technique de production de virus vecteur depuis des années.

➤ **Mode d'administration :**

Administration en deux doses de 0.5mL chacune à un intervalle de quatre à douze semaines par voie intramusculaire dans le deltoïde de préférence.

➤ **Conservation**

Les flacons doivent être conservés à une température comprise entre +2 et +8 °C et à l'abri de la lumière.

4.4 Le vaccin Johnson & Johnson (Ad26.COV2-S [recombinant]):

Développé par l'entreprise pharmaceutique américaine Johnson & Johnson, le vaccin Janssen est un vaccin à vecteur adénoviral non répliquatif contre la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19). Le virus vecteur contenu dans le vaccin stimule la production de l'antigène du SARS-CoV-2 appelé protéine de spicule dans les cellules hôtes, ce qui déclenche la production d'anticorps. Cela permet au corps de générer une réponse immunitaire et de conserver cette information dans les cellules immunitaires mémoires. L'efficacité démontrée lors des essais cliniques chez les participants ayant reçu une dose unique du vaccin Janssen contre la COVID-19 était de 66,9 % contre l'infection symptomatique par le SARS-CoV-2,

de 76,7 % contre la COVID-19 sévère après 14 jours et 85,4% après 28 jours, et de 93,1 %

contre les hospitalisations (Peiffer *et al.*, 2021).

➤ **Administration**

En une seule injection intramusculaire (dose de 0,5 ml) et destiné aux adultes de 18 ans et plus.

4.5 Le vaccin Sputnik (GAMALEYA) :

putnik V est le premier vaccin enregistré au monde basé sur une plateforme de vecteurs d'adénovirus humains bien étudiée, développé par le centre national de la de recherche en épidémiologie et microbiologie russe GAMALEYA conformément aux bonnes pratiques de fabrication. Sputnik V également connu sous le nom de Gam-COVID-Vac, est basé sur la combinaison de deux adénovirus: Ad5 et Ad26 qui se recombinent avec la protéine S du SRAS-CoV-2, qui incite l'organisme à développer une réponse immunitaire à son égard. Les chercheurs de Gamaleya ont notamment opté pour deux vecteurs adénoviraux différents (rAd26 et rAd5) car l'utilisation du même adénovirus pour les deux doses pourrait favoriser une réponse immunitaire de l'organisme contre le vecteur et à le détruire lors de l'administration de la seconde dose. L'efficacité du vaccin est de 97,6% suivant des données sur l'incidence du coronavirus chez les Russes vaccinés avec les deux composants du médicament au cours de la période du 5 décembre 2020 au 31 mars 2021 (**Fallet *et al.*, 2021**).

Le vaccin Sputnik V est efficace contre les nouvelles souches de coronavirus, selon les recherches du Centre Gamaleya, dont les résultats ont été publiés dans le principal magazine international spécialisé Vaccines. La vaccination avec le médicament produit des anticorps neutralisants qui protègent également contre de nouvelles souches, notamment Alpha B.1.1.7 (identifiée pour la première fois au Royaume-Uni), Beta B.1.351 (identifiée en Afrique du Sud), Gamma P.1 (identifiée au Brésil), Delta B. 1.617.2 et B.1.617.3 (identifiés en Inde) et les variantes des souches B.1.1.141 et B.1.1.317 identifiées à Moscou, qui résultent des mutations dans le domaine de liaison au récepteur cellulaire (RBD) (**Youssef, 2021**).

4.6 Les vaccins à ARNm

4.6.1 Vaccin ARNm BNT162b2 (BioNTech-Pfizer)

Le vaccin BioNTech-Pfizer est un vaccin développé par la BioNTech allemande en partenariat avec le géant américain Pfizer. Ce candidat-vaccin à ARN messager (ARNm) nucléosidique encapsulé dans des nanoparticules lipidiques codant pour la totalité de la protéine S. Ce vaccin est indiqué pour l'immunisation active des personnes âgées de 12ans et plus pour prévenir la COVID-19 (**Berche, 2021**). .

➤ Mode d'administration

Il est administré en deux doses à 12 jours d'intervalle par voie intramusculaire, de préférence dans le muscle deltoïde, chaque dose doit contenir 0,3 ml de vaccin.

➤ **Conservation**

Ce vaccin ne contient aucun adjuvant ou conservateur, il doit être conservé dans des fioles dans un congélateur à ultra-basse température (entre -80 °C et -60 °C) et à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation, mais l'agence américaine du médicament a déclaré qu'il pouvait être conservé à -25°C. Ces fioles peuvent être décongelées et conservées au réfrigérateur entre +2 °C et +8 °C jusqu'à 120 heures (5 jours).

4.6.2 Vaccin RNAm-1273 (Moderna)

Ce vaccin développé par le laboratoire de l'industrie pharmaceutique Moderna therapeutics à Cambridge. C'est un vaccin à ARNm encapsulé dans des nanoparticules lipidiques qui code pour la protéine S stabilisée par préfusion. Une fois le vaccin ARNm-1273 à l'intérieur des cellules hôtes, le vaccin a montré une efficacité de 94,1 % pour prévenir la COVID-19, y compris dans sa forme grave, au moins 14 jours après la deuxième injection (Peiffer-Smadja *et al.*, 2021)

Administration

Administration par voie intramusculaire, selon un schéma de deux doses de 0.5 ml chacune à un intervalle de 28 jours.

-Conservation

Stockage au congélateur à une température entre -25° et -15°C, à l'abri de la lumière dans son emballage d'origine, conservation à une température de 2° à 8°C pour une durée maximale de 30 jours, et à température ambiante pour une journée.

Conclusion Générale



Conclusion Générale

Le SARS-CoV-2 est une maladie infectieuse virale et émergente, appelée également maladie à COVID-19, apparue initialement en décembre 2019 à la ville chinoise, Wuhan, puis il est rapidement devenue une pandémie et un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale avec des millions de cas et de décès.

Le SARS-CoV-2 est un *bêtacoronavirus* appartenant au sous-genre *Sarbecovirus*. et est en partie lié au SARSCoV et au MERS-CoV selon le séquençage du génome. Il peut toucher tous les âges, les hommes plus que les femmes. La principale voie de transmission est l'exposition directe et indirecte aux voies respiratoires. La transmissibilité et la contagiosité très élevées du SARS-CoV-2 peuvent être attribuées à la forte affinité de liaison de la protéine S du SARS-CoV-2 à l'ACE2. La transmission rapide est due à la faible liaison entre le domaine de liaison au récepteur (RBD) du SARS-CoV2 et la cellule hôte.

Bien que le SARS-CoV-2 a un tropisme principalement respiratoire, mais il peut atteindre aussi le cœur et entraîner ainsi des complications cardio-vasculaires graves qui compromettent le pronostic des malades. Le tableau clinique est très variable allant de la forme asymptomatique au syndrome de détresse respiratoire aigu.

Le diagnostic se base, généralement, sur la détection du génome viral au niveau du nasopharynx par des méthodes de biologie moléculaire. En l'absence de molécules antivirales spécifiques, le traitement demeure, à l'heure actuelle, principalement symptomatique.

L'élément clé face au SARS-CoV-2 est de réduire sa transmission. Les mesures de prévention se basent, essentiellement, sur l'application de mesures d'hygiène des mains adéquates et la désinfection de l'environnement, ainsi que sur des mesures de distance sociale visant à limiter les contacts dans la population et à protéger les populations à risque.

Parmi les conséquences positives de cette crise, la pandémie de COVID-19 a permis le développement de vaccins sûrs, rapides à développer et capables de s'adapter

rapidement aux changements de séquence génétique tels que ceux présents dans les variants.

La vaccination a ouvert la perspective d'une fin de pandémie. Des efforts internationaux sans précédent ont permis le développement de vaccins contre le SARS-CoV-2 en un temps record grâce à l'utilisation de technologies nouvelles. De nouvelles générations de vaccins sont déjà en cours d'élaboration pour pouvoir faire face aux nouveaux variants, notamment ceux portant la mutation E484K (variants delta).

La plupart des vaccins COVID-19 semblent être efficaces et sûrs. Les données des essais cliniques sur la protection à long terme des vaccins et contre les multiples variants de COVID-19 sont limitées. Des recherches plus poussées sont nécessaires pour étudier l'efficacité et la sécurité à long terme des vaccins et l'influence de la dose, de l'âge et du processus de production sur l'efficacité de la protection.

Les Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Alberer M., Gnad-Vogt U., Hong HS., Mehr KT., Backert L., Finak G., *et al.* (2017).
Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial. *Lancet*. 390: 1511-20.
2. Alouane T., Laamarti M., Essabbar A., Hakmi M., Bouricha E., *et al.* (2020).
Genomic Diversity and Hotspot Mutations in 30,983 SARS CoV-2 Genomes: Moving Toward a Universal Vaccine for the “Confined Virus”?. *Pathogens*, 9:829. doi:10.3390/pathogens9100829.
3. Anzi H (2021). PCR SARS-CoV-2 : Comparaison entre le kit MAScIR SARS-CoV-2 M 0.2 et le kit GeneFinder™ COVID-19 Plus RealAmp Kit. Mémoire de MASTER en Biotechnologie médicale. Université Mohammed V – Rabat. 107 pages.
4. Benlankadem T. (2021). Place du dosage des marqueurs biochimiques dans l'infection covid-19. Université mohammed V de Rabat. Faculté de médecine et de pharmacie. 144 pages.
5. Berche P. (2021). Les vaccins contre la Covid-19. *Revue de Biologie Médicale* 22 (359):1-12.
6. Bertholom C. (2021). Réponse immunitaire associée au Sars-CoV-2. *Option Bio* (32) (627-628) : 15-18.
7. Birgand G., Kerneis S., Lucet JC. (2022). Modes de transmission du SARS-CoV-2 : que sait-on actuellement ? *Médecine et Maladies Infectieuses Formation*. 1(1):2-12. doi:10.1016/j.mmifmc.2021.11.001
8. Burtsey S., Sallée M. (2021). Les atteintes rénales de la COVID-19 Kidney damage in COVID-19. *Néphrologie & Thérapeutique* 17(4) : 203-207. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2021.06.002>
9. Cacini A., Fontana P., Glauser F., Robert-Ebadi H., Righini M, Blondon M (2020).
Risque thrombotique veineux induit par le SARS-CoV-2: prévalence, recommandations et perspectives. *Rev Med Suisse*. 16 : 951-4.
10. Caumes E. (2020). L'infection à SARS-CoV-2. *Arch Mal Coeur Vaiss Pratique*. 291:2-4. doi:10.1016/j.amcp.2020.08.002

11. Daoui A. (2021). Profil épidémiologique, clinique et biologique des patients COVID-19 hospitalisés au CHR Hassan II. d'Agadi. Thèse de doctorat. Université Kadi Ayyad. Maroc. 156 pages.
12. De Greef J., Pothen L., Yildiz H., Poncin W et al. (2020). COVID-19 : infection par le virus SARS-CoV-2. *Médecine interne et maladies infectieuses*. 139 (05-06) : 290-301.
13. Dockès P. (2020). En sortir, mais dans quel état ? De la peste à la covid-19. HAL Id: halshs-03003053. <https://halshs.archives-ouvertes.fr/halshs-03003053>.
14. Elbahri L. (2021). Contribution à l'étude covid-19 et système cardiovasculaire. Thèse de doctorat en médecine, université de Mohammed V de rabat-Maroc. 193 pages.
15. Fallet B., Mlauton A., Cmote D., Ribl C., Muller DY. (2021). Vaccins contre le Covid-19 : cibles vaccinales, immunogénicité et réactions allergiques. *Rev Med Suisse*. 17 : 690-696.
16. Flageul A. (2020). *Gammacoronavirus* aviaires : dynamique évolutive des populations virales au cours d'infections expérimentales chez les poulets et les dindes. Thèse de doctorat. Université de rennes 1. 152 pages
17. Habbari M (2021). Sars-cov-2 et covid-19 : actualités d'une pandémie sans précédent. Université Mohammed V de Rabat. Faculté de médecine et de pharmacie. 176 pages.
18. Hamidi R.M., Ouali M., Hamoudi. Y., Djerdjar C T., (2020). COVID-19 en réanimation : quelle prise en charge ? *Algerian Journal of Allergology*. 01(5): 2543-3555.
19. Hantz S. Diagnostic biologique de l'infection à Sars-CoV-2 : stratégies et interprétation des résultats [Biological diagnosis of Sars-CoV-2 infection: strategies and interpretation of results]. *Rev Francoph Lab*. 2020;2020(526):48-56. doi:10.1016/S1773-035X(20)30313-0.
20. <https://www.sante.gov.dz/coronavirus/coronavirus-2019.html>.
21. Imzourh, S (2022). Vaccination anti-covid19. Université mohammed V de Rabat. Faculté de médecine et de pharmacie. 189 pages.
22. Jamaï Amir I., Lebar Z., yahyaoui G., Mahmoud M. (2020). Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio*. 31(619): 15–20. DOI : 10.1016/S0992-5945(20)30178-1.

23. Kassimi W . (2021). Vaccins anti covid-19 et stratégie nationale de vaccination. Thèse de doctorat. Université Mohammed V de Rabat. Faculté de médecine et de pharmacie. 170 pages
24. Ketfi1 A., Chabatil O., Chemali S., Mahjoub M., Gharnaout M., Touahril R., et al. (2020). Profil clinique, biologique et radiologique des patients Algériens hospitalisés pour COVID-19: données préliminaires. *The Pan African Medical Journal*. 35 (2):77-87.
25. Kherabi Y, Lescure FX, Yazdanpanah Y, Peiffer-Sadja N. (2022). COVID-19 : les thérapeutiques. *Médecine et Maladies Infectieuses Formation*. 1(1):13-23. doi:10.1016/j.mmifmc.2021.11.005.
26. Kissing S et Pruijm M. (2020). Vue sur le COVID-19 : depuis la néphrologie. *Rev Med Suisse*. 16 : 842-4.
27. Labrouzi I. (2021). Vaccin coVid-19 : la place du Maroc dans les essais cliniques. Université mohammed V de Rabat. Faculté de médecine et de pharmacie. 183 pages.
28. Lamara Mahammed L., Merah F., Allam I., Djidjik R. (2020). Mécanismes immunopathologiques au cours de l'infection au SARS-CoV-2. *Revue Algérienne d'allergologie*. . 05(01) :2543-3555.
29. Lefevre C, Przyrowski É, Apaire-Marchais V. (2020). Aspects virologiques et diagnostic du coronavirus Sars-CoV-2. *Actual Pharm*. 59(599):18-23. doi:10.1016/j.actpha.2020.08.005
30. Lelièvre J-D., Gautheret-Dejean A., Petitprez K, Tchakamian S. (2021). Aspects immunologiques et virologiques de l'infection par le SARS-CoV-2. Haute Autorité de Santé (HAS). ISBN :978-2-11-155666-9. 135 pages.
31. Léon G., Morin L. (2021). Synthèse sur le variant G614 du SRAS-CoV-2 : répercussions épidémiologiques et cliniques sur la COVID-19. *Institut national de santé publique de Québec*. 21 page.
32. Lina B. (2022). Les différentes phases de l'évolution moléculaire et antigénique des virus SARS-CoV-2 au cours des 20 mois suivant son émergence. *Bull Acad Natl Med*. 206(1):87-99. doi:10.1016/j.banm.2021.11.002
33. Mahieu R, Dubée V. (2020). Aspects virologiques et diagnostic du coronavirus Sars-CoV-2 Virological aspects and diagnosis of SARS-CoV-2 coronavirus. *Actualités pharmaceutiques*. 59 (599) :18-23.

34. Matusik É., Ayadi M., Picard N. (2020). Covid-19, prise en charge, pistes thérapeutiques et vaccinales COVID-19, management, therapeutic and vaccine approaches. *Actualités Pharmaceutiques*. 59 (599): 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2020.08.007>
35. Meppiel É. (2021). Manifestations neurologiques au cours de l'infection par Sars-CoV-2. *Neurologies*. 24 (239) : 190-198.
36. Mourez T., Burrel S., Boutolleau D., Pillet S. (2019). Edi : Société Française De Microbiologie. 2ème édition. 793 pages
37. Nisole S., Saulnier A., Gagniol A. (2020). Syndrome respiratoire aigu sévère dû au coronavirus 2 (SRAS-CoV-2) : faut-il cibler le virus, la cellule ou la maladie ?. *Virologie*. 24(3) : 78-98. DOI : 10.1684/vir.2020.0843.
38. Notomi T., Okayama H., Masubuchi et al. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res*. 28(12):e63-e63.
39. Peiffer-Smadja N., Rozencwajg S., Kherabi Y., Yazdanpanah Y., Montravers P. (2021). Vaccins COVID-19: une course contre la montre. *Anaesth Crit Care Pain Med* 40:100848.
40. Plaçais L., Richier Q. (2020). COVID-19 : caractéristiques cliniques, biologiques et radiologiques chez l'adulte, la femme enceinte et l'enfant. Une mise au point au cœur de la pandémie. *Rev Med Interne*. 41(5):308-318. doi:10.1016/j.revmed.2020.04.004.
41. Reynaud CA., Weill JC., Chappert P., Mahévas M. (2021). Mémoire immunitaire contre le SARS-CoV-2 Des anticorps contre l'infection initiale et des lymphocytes B à mémoire contre les infections futures. *Med Sci (Paris)*. 37 : 722–725. <https://doi.org/10.1051/medsci/2021122>.
42. Rousseau A., Fenolland JR., Labetoulle M (2020). SARS-CoV-2, COVID-19 et œil : le point sur les données publiées. *Journal Français d'Ophtalmologie*. 43 (7) : 642-652.
43. Segondy M. (2020). Les Coronavirus humains. *Rev Francoph Lab*. 526: 32–39. DOI : 10.1016/S1773-035X(20)30311-7.
44. Tran Van Nho J., Pardo E. (2020). Complications cardiaques de la COVID-19 en réanimation. *Prat Anesth Reanim*. 24(4):212-217. doi:10.1016/j.pratan.2020.07.003.
45. Vabret A., Dina J., Brison, E, Brouard J., Freymuth F (2019). Coronavirus humains (HCoV). *Pathol Biol (Paris)*. 57(2): 149–160. DOI : 10.1016/j.patbio.2008.02.01

46. Wang N., Shang J., Jiang S., Du L., (2020). Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses. *Front. Microbiol*, 11: 298-305, doi: 10.3389/fmicb.2020.00298.
47. Wolff JA., Malone RW., Williams P., Chong W., Acsadi G., Jani A., et al. (1990). Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science* **247** : 1465-8.
48. Yan-Rong G., Qing-Dong C., Zhong-Si H et al., (2020). The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (Covid-19) outbreak – an update on the status . *Military Medical Research*. 7:11.
49. Youssef M. (2022). L'intérêt de l'utilisation de la vitamine C et le Zinc au cours de la pandémie covid-19. Thèse de doctorat en médecine, université de Mohammed V de rabat-Maroc. 151 pages.
50. Zhengli S. (2021). Du SRAS et du MERS à la COVID-19 : un voyage pour comprendre les coronavirus des chauves-souris. *Bull Acad Natl Med*. 205 :732-736.