

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique Université de Blida -1



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en science de la nature et de la
vie

Option : Génétique

Thème

**Contribution à l'étude des variations métaboliques et
inflammatoires au cours d'une infection Covid-19 avec cas
particulier de maladies génétiques éventuels**

Présenté par :

IKHOU Yasmine

Date de la soutenance :14/09/2022

Soutenu devant le jury composé de :

Non :

Mme ZATRA Y.

Mme AISSANI R.

Mme ZEROUTI K.

Dr LASSAS K.

Grade :

MCB

MCB

MCB

MCB

Lieu :

USDB

USDB

USDB

EPH Boufarik

Qualité :

Présidente

Examinatrice

Promotrice

Co-promotrice

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Au terme de cette étude, je commence d'abord par le remerciement du bon Dieu, de m'avoir donné assez de volonté et de santé pour terminer ce mémoire

Je tiens particulièrement à exprimer mes sincères remerciements à mon encadrante Madame ZEROUTI.K Je lui exprime mon profond respect et mon chaleureux remerciements pour avoir orienté et enrichi ce travail.

Je tiens à remercier sincèrement et très chaleureusement le personnel du Laboratoire Central de l'hôpital de Boufarik, et en particulier Dr. LASSAS.K qui m'a permis de bénéficier de son encadrement, les conseils qu'elle m'a fournis, la patience, la confiance qu'elle m'a témoignée ont été déterminants dans la réalisation de mon projet.

Un grand remerciement au membre du jury pour avoir accepté d'examiner ce travail. Madame la présidente ZATRA Y et ainsi à l'examinatrice Madame AISSANI.R

Un grand merci à monsieur MOHAMED SAID notre Responsable de la spécialité.

Un grand merci à tous les enseignants qui m'ont accompagnée durant ce cursus Universitaire

En définitive, je remercie toute personne qui a participé de près ou de loin, de façon directe ou indirecte à la réussite de ce travail pour lequel j'avais tant consacré en y mettant ainsi tout mon cœur. Merci énormément, et que Dieu vous protège, bénisse, et je prie Dieu de vous donner la santé et le bien-être

Merci



Dédicace

*Du profond de mon cœur, je dédie ce
Modeste Travail à tous ceux qui me sont
Chers :*

*A ma très chère mère FAÏMA, la lumière de mes yeux,
L'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie qui m'a
Encouragé à aller de l'avant et qui m'a donné tout son
Amour pour reprendre mes études.*

*Pour l'âme de mon très cher père RAMDANE, décédé
Trop tôt, j'espère que du monde qui est le sien
Maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve
De reconnaissance de la part d'une fille qui a toujours
Priée pour le salut de son âme, puisse Dieu tout puissant
L'avoir en sa sainte miséricorde*

A mes sœurs

*MALIKA & NACIRA & NASSIMA & MOUFIDA et mes
Cher frères MOHAMED,
& RACHID & NOUREDDINE & KARIM & SAMIR et
HAKIM qui ont toujours été à mes côtés.*

*A toutes les Personnes que j'aime A tous mes
Amis et mes camarades de la promo 2021 /2022*

Yasmine



BONTONTY

Résumé

La SARS-CoV-2 est le nom officiel du nouveau coronavirus identifié le 9 janvier 2020 dans la ville de Wuhan, chef-lieu de la province du Hubei en Chine. Il est l'agent étiologique de l'épidémie de pneumopathie infectieuse qui s'est répandue en Chine et dans le monde à partir de fin décembre 2019. Cette maladie a été nommée COVID-19 par l'OMS, le 11 février 2020

Notre étude est une étude descriptive rétrospective qui a intéressé une population de cent 100 patients hospitalisés au EPH BOUFARIK, atteint de covid 19. Confirmé par un test PCR Positif L'étude a été menée au laboratoire central de l'EPH sur une période de Trois mois (Janvier 2022 – Mars 2022).

Le travail entrepris est étude descriptive rétrospective qui a intéressé une population de cent (100) patients qui ont été hospitalisés au EPH BOUFARIK avec état critique suite à l'infection par le COVID-19 et diagnostiquée par RT-PCR. L'étude a été menée au laboratoire central de l'EPH sur une période de trois mois (Janvier 2022 – Mars 2022). L'objectif principal est d'étudier l'impact d'une infection COVID-19 sur le métabolisme biochimique et les paramètres inflammatoires, tous en cherchant son impact sur ces paramètres lors d'une comorbidité.

Les résultats obtenus montrent que cours d'une infection COVI-19 les comorbidités fréquentes ont été les cardiopathies, le diabète type I, diabète type II. L'hyperglycémie a marqué le dysfonctionnement majoritairement rencontré avec toute comorbidité. En revanche, les résultats démontrent l'absence de dysfonctionnement hépatique dans la cohorte étudiée. De plus, une perturbation du bilan rénal est surtout retrouvée chez les patients avec insuffisance rénale. Les perturbations inflammatoires signalées dans cette étude sont essentiellement une leucocytose et une augmentation des taux de la CRP, particulièrement chez les malades souffrant des maladies rhumatismales. Toutefois, l'étude démontre l'absence de toutes perturbations inflammatoires ou métaboliques chez les patients atteints de la COVID-19 et qui ne présentent aucune comorbidité signalée.

Mots clés : COVID-19 SARS-CoV-2, RT-PCR, métabolisme biochimique paramètres inflammatoires.

Summary

SARS-CoV-2 is the official name of the new coronavirus identified on January 9, 2020 in the city of Wuhan, capital of Hubei province in China. It is the etiological agent of the infectious pneumonitis epidemic which spread in China and in the world from the end of December 2019. This disease was named COVID-19 by the WHO, on February 11, 2020

Our study is a retrospective descriptive study which interested a population of one hundred and 100 patients hospitalized at the EPH BOUFARIK, suffering from covid 19. Confirmed by a positive PCR test The study was carried out at the central laboratory of the EPH over a period of three month (January 2022 – March 2022).

The work undertaken is a retrospective descriptive study which interested a population of one hundred (100) patients who were hospitalized at EPH BOUFARIK in critical condition following infection with COVID-19 and diagnosed by RT-PCR. The study was conducted at the EPH central laboratory over a period of three months (January 2022 – March 2022). The main objective is to study the impact of a COVID-19 infection on biochemical metabolism and inflammatory parameters, while seeking its impact on these parameters during comorbidity.

The results obtained show that during a COVI-19 infection the frequent comorbidities were heart disease, type I diabetes, type II diabetes. Hyperglycemia marked the dysfunction mostly encountered with any comorbidity. On the other hand, the results demonstrate the absence of hepatic dysfunction in the cohort studied. In addition, a disturbance of the renal balance is especially found in patients with renal insufficiency. The inflammatory disturbances reported in this study are mainly leukocytosis and increased CRP levels, particularly in patients with rheumatic diseases. However, the study demonstrates the absence of any inflammatory or metabolic disturbances in patients with COVID-19 who have no reported comorbidities.

Keywords : COVID-19 SARS-CoV-2, RT-PCR, biochemical metabolism, inflammatory parameters.

ملخص

SARS-CoV-2 هو الاسم الرسمي لفيروس كورونا الجديد الذي تم تحديده في 9 يناير 2020 في مدينة ووهان ، عاصمة مقاطعة هوبي في الصين. هو العامل المسبب للمرض لوباء الالتهاب الرئوي المعدي الذي انتشر في الصين والعالم اعتبارًا من نهاية ديسمبر 2019. تم تسمية هذا المرض بـ COVID-19 من قبل منظمة الصحة العالمية، في 11 فبراير 2020.

دراستنا عبارة عن دراسة وصفية بأثر رجعي والتي اهتمت بمجموعة من مائة و100 مريض تم نقلهم إلى المستشفى في مستشفى EPH BOUFARIK ، يعانون من مرض كوفيد 19. تم تأكيده باختبار PCR إيجابي. تم إجراء الدراسة في المختبر المركزي لـ EPH على مدى فترة من ثلاثة أشهر (يناير 2022 - مارس 2022).

العمل الذي تم إجراؤه عبارة عن دراسة وصفية بأثر رجعي والتي اهتمت بمجموعة من مائة (100) مريض تم نقلهم إلى المستشفى في مستشفى EPH BOUFARIK في حالة حرجة بعد الإصابة بـ COVID-19 وتم تشخيصهم بواسطة RT-PCR. أجريت الدراسة في مختبر EPH المركزي على مدى ثلاثة أشهر (يناير 2022 - مارس 2022). الهدف الرئيسي هو دراسة تأثير عدوى COVID-19 على التمثيل الغذائي الكيميائي الحيوي والمعايير الالتهابية ، مع البحث عن تأثيرها على هذه المعلمات أثناء الاعتلال المشترك.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أنه أثناء الإصابة بفيروس COVID-19 ، كانت الأمراض المصاحبة المتكررة هي أمراض القلب والسكري من النوع الأول والسكري من النوع الثاني. يشير ارتفاع السكر في الدم إلى الخلل الوظيفي الذي يصادف في الغالب أي اعتلال مشترك. من ناحية أخرى، أظهرت النتائج عدم وجود اختلال وظيفي كيدي في المجموعة المدروسة. بالإضافة إلى ذلك، يوجد اضطراب في التوازن الكلوي بشكل خاص في المرضى الذين يعانون من القصور الكلوي. الاضطرابات الالتهابية التي تم الإبلاغ عنها في هذه الدراسة هي بشكل رئيسي زيادة عدد الكريات البيضاء وزيادة مستويات بروتين سي التفاعلي، خاصة في المرضى الذين يعانون من أمراض الروماتيزم. ومع ذلك، توضح الدراسة عدم وجود أي اضطرابات التهابية أو أبطية لدى مرضى COVID-19 الذين لا يعانون من أمراض مصاحبة.

الكلمات المفتاحية RT-PCR ، . COVID-19 SARS-CoV-2 ، التمثيل الغذائي البيوكيميائي ، العوامل الالتهابية.

Sommaire

Introduction	1
I. Synthèse bibliographique	2
I.1. Historique	2
I.2. Rappels virologiques	3
I.2.1. Taxonomie et classification	3
I.2.2. Réservoirs primaires et hôtes des coronavirus	3
I.2.3. Origine du SRAS-CoV-2 :	4
I.2.4. Structure et génome du SARS-CoV-2 5 • Structure du virus :	5
• Génome	8
I.2.5. Cycle de réplication virale du SARS-CoV-2 :	10
I.2.6. I.2.6. Variabilités génétiques du SARS-CoV-2 :	12
I.2.7. Variants du SARS-CoV-2 :	13
I.3. Épidémiologie	13
I.3.1. Modes de transmission	13
13 I.3.2. Contagiosité et période d'incubation :	14
I.4. Histoire naturelle de la COVID-19 :	14
I.4.1. Physiopathologie :	14
I.4.2. Manifestations cliniques :	16
I.5. Diagnostic virologique du SARS-CoV-2 :	18
I.6. Traitement :	18
II.1. Matériel	19
• Patients	19
• Prélèvements nasaux	20
• Prélèvements sanguins	20
II.1.2. Matériel non biologique	20
II.2. Méthodes	20
II.2.1. Technique du diagnostic par RT-PCR	20
• Principe	20

•Technique	22
II.2.2. Techniques de dosage des paramètres métaboliques et inflammatoires	24
II.2.3. Expression statistique des résultats	24
III.1. Description des groupes étudiées selon les caractéristiques démographiques	25
III.1.1. Répartition selon l'âge	25
III.1.2. Répartition selon le genre	26
III.1.3. Répartition selon la comorbidité	27
III.2. Perturbations des paramètres métaboliques au cours de la COVID-19	28
III.2.1. Évolution de la glycémie	28
III.2.2. Évolution du bilan rénal	30
III.2.2. Évolution du bilan hépatique	32
III.3. Perturbations hémodynamiques au cours de la COVID-19	34
III.4. Perturbations inflammatoires au cours de la COVID-19	37
Conclusion	41

Liste des figures

Figure 1	Structure schématisée du SARS-CoV-2	5
Figure 2	Le domaine RBD (receptor binding domain) est la région de la protéine spike Entrant en contact avec le récepteur cellulaire ACE2	6
Figure 3	Structure du domaine de liaison au récepteur (RBD) de la protéine S du SARS-CoV-2	7
Figure 4	Présentation schématique de l'organisation du génome du SRAS-CoV-2, des ARNm sous génomiques canoniques et de la structure du virion.	9
Figure 5	Schéma montrant le cycle de vie du SARS-CoV-2 dans les cellules hôtes	11
Figure 6	Schéma résumant les cibles virales de l'immunité humorale et cellulaire dirigée Contre le SARS-CoV-2(96).	16
Figure 7	Schéma résumant les altérations systémiques induites par le SARS-CoV-2	17
Figure 8	Schéma général des cibles moléculaires amplifiés par la RT-PCR	21
Figure 9	Amorces et régions amplifiées sur l'ADNc du virus	23
Figure 10	Schéma général de la RT-PCR en temps réel	23
Figure 11	Répartition globale selon les classes d'âge	25
Figure 12	Comparaison entre la moyenne d'âge des groupes	25
Figure 13	Répartition globale selon le genre	26
Figure 14	Répartition des deux genres selon les classes d'âge	27
Figure 15	Répartition globale selon la comorbidité	28
Figure 16	Comparaison du taux de la glycémie entre les deux groupes COM et SCOM	29
Figure 17	Comparaison des paramètres du bilan rénal entre les deux groupes COM et SCOM	31
Figure 18	Comparaison des paramètres du bilan hépatique entre les deux groupes COM et SCOM	33
Figure19.	Comparaison des paramètres hémodynamiques entre les deux groupes COM et SCOM	36
Figure 20	Comparaison du taux de la CRP entre les deux groupes COM et SCOM	38
Figure 21	Comparaison du taux des leucocytes sanguins entre les deux groupes COM et SCOM	40

Liste des tableaux

Tableau I	Perturbation de la glycémie en fonction des comorbidités	32
Tableau II	Perturbation de l'urée en fonction des comorbidités	34
Tableau III	Perturbation de la créatinine en fonction des comorbidités	35
Tableaux IV	Perturbation des transaminases en fonction des comorbidités	36
Tableaux V	Perturbation de la bilirubine en fonction des comorbidités	37
Tableau VI	Perturbation du TP/INR en fonction des comorbidités	40
Tableau VII	Perturbation du CRP en fonction des comorbidités	42
Tableau VIII	Perturbation des leucocytes sanguin en fonction des comorbidités	38

Abréviation

- **ACE2** : Enzyme de conversion de l'angiotensine 2
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- **AngII** : Angiotensine 2
- **ARN** : Acide Ribo Nucléique
- **ARNm** : Acide Ribo Nucléique messenger
- **AT1** : Angiotensine 1
- **CatB/L** : CatB/L-alanine-DL-glutamate épimérase
- **CD147** : Cluster de Différenciation 147
- **CMH** : Complexe majeur d'histocompatibilité
- **CoV** : Coronavirus
- **COVID-19** : COronaVirus Disease 2019
- **CPA** : Cellules Présentatrices d'Antigènes
- **CTD** : Domaine carboxyl-terminal
- **CRP** : C-reactive Protein
- **DT2** : Diabète de type 2
- **DT1** : Diabète de type 1
- **HTA** : l'hypertension artérielle
- **HLA** : Human Leucocyte Antigen
- **hPSC** : cellules souches pluripotentes humaines
- **HKU1** : Human Corona Virus

- **IBV** : Infectious Bronchitis Virus
- **ICTV** : Comité International de Taxonomie des Virus
- **IFN** : Interferon
- **IL-6** : Interleukine-6
- **MERS-CoV** : Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen Orient
- **MHV** : Mouse Hepatitis Virus
- **NSP** : Protéines non structurales
- **NTD** : Domaine N-terminal
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé

- **ORF** : Open Reading Frame
 - **PCR** : Polymerase Chain Reaction
 - **PEDV** : Porcine Epidemic Diarrhea Coronavirus
 - **PTPN22** : Protéine Tyrosine Phosphatase Non récepteur type 22

 - **RDB** : Receptor Binding Domain
 - **RdRp** : ARN polymérase ARN-dépendante
 - **RE** : Réticulum Endoplasmique
 - **RT-PCR** : Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
 - **SARS-CoV** : Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus
 - **SDRA** : Syndrome de détresse respiratoire aiguë
 - **SNP** : Signal Nucléotide Polymorphisme

 - **TDR** : Test Diagnostic Rapide
 - **TMPRSS2** : Transmembrane Serine Protease 2
 - **TM2** : Domaine Transmembranaire 2
- TGO** : Glutamate Oxaloacétate Transaminase
- TGP** : Glutamate Pyruvate Transaminase
- TMPRSS22** : Protein Transmembranaire a Serine 2
- **TP** : Prothrombine
 - **2019-nCoV** : Nouveau Coronavirus 2019

Introduction

Introduction

L'année 2019 a été marquée par l'apparition d'une pneumonie particulière, de cause inconnue et localisée en Chine, exactement dans la province du Wuhan. Les enquêtes ont conduit à l'identification d'un nouveau coronavirus chez les patients atteints (**Zhang et al., 2020** **Huang et al 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 respectivement, par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), SARS-CoV-2 (pour le coronavirus-2 du syndrome respiratoire aigu sévère) et COVID-19 (Pour CoronaVirus Disease 2019) (**Sohrabi et al 2020**) Depuis son apparition plusieurs, l'infection virale s'est propagée rapidement vers d'autres pays, provoquant ainsi une mortalité importante. Suite à cette évolution dramatique, l'OMS a annoncé publiquement, le 11 mars 2020, l'épidémie de SRAS-CoV-2 comme une pandémie mondiale (**Tarek Alouane et al.2020**)

Le SARS-CoV-2 appartient à la famille des coronavirus (CoV) et est le septième coronavirus pathogène pour l'Homme. C'est un virus enveloppé avec un génome à ARN simple brin de polarité positive d'environ 29,8 à 29,9 kb avec 10 cadres de lecture ouverts (ORF) codant pour environ 30 protéines. L'ORF1ab code pour 16 protéines non-structurales, dont la RdRp, Les autres ORF codent entre autres, pour quatre protéines structurales ; la glycoprotéine S, qui est l'épitope des anticorps neutralisants et le site d'attache au récepteur ACE, la protéine N (Nucléoprotéine), la protéine d'enveloppe E et la matrice M. Les gènes codant pour la RdRp et les protéines structurales sont les cibles recherchées par les tests PCR.

Le virus SARS-CoV-2 affecte principalement le système respiratoire provoquant un large panel de présentations cliniques ; de l'infection asymptomatique aux formes graves avec SDRA (syndrome de détresse respiratoire aigu) nécessitant une prise en charge en réanimation. Des signes d'une infection respiratoire avec fièvre, toux et asthénie sont observés chez la majorité des malades symptomatiques (**Zhou et al., 2020**) La mortalité est élevée chez les personnes âgées (plus de 60 ans) et chez les personnes souffrant de comorbidités. (**Wang et al., 2020**).

L'objectif principal de ce travail est de faire une étude des variations métaboliques et inflammatoires au cours d'une infection Covid-19. L'ampleur de ces variations a été étudiée chez deux groupes de patients pour le Covid-19 et diagnostiqués par une RT-PCR positive ; le premier groupe est formé par des patients avec une comorbidité (inflammatoire ou métabolique) et le deuxième sans aucune comorbidité déclarée avant l'infection.

I.1 Historique

L'historique des coronavirus remonte à l'année **1930**, les chercheurs américains Schalk et Hawn ont signalé une nouvelle maladie respiratoire chez les poussins, se caractérisant par une détresse respiratoire aigüe. Le virus responsable est appelé : virus de la bronchite infectieuse aviaire (Infectious Bronchitis Virus, IBV). En **1965**, les chercheurs britanniques David Tyrrell et Malcolm Bynoe caractérisent à partir d'écouvillonnage respiratoire d'un jeune garçon présentant un rhume typique une souche virale, appelée B 814 (**Tyrrell et al., 1965**).

En **1966**, les chercheurs Hamre et Procknow de l'Université de Chicago ont rapporté qu'ils avaient été cultivés dans des cultures de cellules rénales embryonnaires humaines inoculées avec des échantillons des voies respiratoires d'un patient atteint de rhume, la souche virale, appelée 229 E, dont le matériel génétique est composé d'ARN (**Hamre et al., 1966**).

En **1967**, Kenneth McIntosh des National Institutes of Health (NIH, Bethesda, Maryland) et ses collaborateurs ont découvert une nouvelle souche de virus appelée OC43, dont la forme était très similaire au virus de la bronchite infectieuse aviaire. Ce virus a été isolé à partir d'explants de tubes humains stockés en culture d'organes, d'où le « OC » dans le nom du virus (**McIntosh et al., 1967**).

Le 16 novembre **1968**, le magazine "Nature" a rapporté qu'un groupe de virologues avait déterminé le nom "coronavirus" pour un nouveau groupe de virus sur la base de critères morphologiques complets (**Almeida et al., 1968**).

Entre novembre **2002** et juillet **2003**, un agent infectieux a causé une épidémie de pneumonie atypique dans la province de Guangdong, Sud de la Chine. Se caractérisant généralement par une fièvre élevée et des symptômes respiratoires légers, mais évoluant rapidement vers une pneumonie en quelques jours. L'agent responsable du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SRAS) est nommé SARS-CoV ayant infecté 8437 individus et causé 813 décès dans le monde représentant ainsi la première pandémie bien documentée de ce siècle (**Zhong et al, 2003**).

Le MERS-CoV, est apparu pour la première fois en **2012** en Arabie saoudite. Ce syndrome respiratoire du Moyen-Orient affecte les voies respiratoires, provoquant de la fièvre et de la toux, et la mort dans environ 30% des cas. Le virus a ensuite été trouvé dans plusieurs pays du Moyen-Orient. Depuis lors, 1 219 cas ont été diagnostiqués, entraînant 449 décès.

L'épidémie est encore très limitée géographiquement. Une épidémie de pneumonies de cause inconnue a été découverte et décrite à Wuhan, dans la province du Hubei, en Chine, en décembre **2019**.

La découverte d'un nouveau coronavirus a été déclarée urgence de santé publique de portée internationale par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) le 9 janvier **2020**. Appelé pour la première fois 2019-nCoV puis SARSCoV-2, ce virus est différent du virus SARS-CoV et il est également différent du virus MERS-CoV. La pandémie COVID-19 a été déclarée par l'OMS le 11 mars 2020 (**Historique des coronavirus responsables d'épidémies graves 2021**).

I.2. Rappels virologiques

I.2.1. Taxonomie et classification

La classification des Coronavirus comme le rapporte le Comité International de Taxonomie Virale (ICTV) est fondée sur Cinq domaines essentiels étant les seuls conservés dans tous les virus de l'ordre Nidovirales (3CLpro, NiRAN, RdRp, ZBD et HEL1), ils ont été retenus pour servir à sa constitution (**HAL 2021**).

Les Coronavirus (virus enveloppés à ARN monocaténaire de polarité positive) forment une famille de 39 espèces réparties en 27 sous-genres, 4 genres et 2 sous familles. Les coronavirus (CoV) appartiennent à l'ordre des *Nidovirales*, dans la famille des *Coronaviridae* on trouve la sous-famille des *Coronavirinae* composée de quatre genres : *Alphacoronavirus* (*alpha-CoV*), *Betacoronavirus* (*beta-CoV*), *Gammacoronavirus* (*gamma-CoV*) et *Deltacoronavirus* (*deltaCoV*). Le genre *Betacoronavirus* est subdivisé en 4 clades, nommés « A, B, C, et D » (**Monto, 2019**).

Les sept coronavirus sont :

Alphacoronavirus : • Hcov-229E et H Cov-NL 63

Betacoronavirus : • Clade A : OC43 et HKU1 • Clade B : SARS-CoV et SARS-CoV-2

• Clade C : MERSCov

I.2.2. Réservoirs primaires et hôtes des coronavirus

Les Alphacoronavirus et bêta-coronavirus infectent uniquement les mammifères et causent généralement des maladies respiratoires chez l'homme et une gastro-entérite chez les animaux (**Masters, 2006**), les Deltacoronavirus et les Gammacoronavirus infectent les oiseaux, mais certains d'entre eux peuvent également infecter les mammifères. Le coronavirus est à l'origine de diverses pathologies. Le virus de la bronchite infectieuse (IBV) Gammacoronavirus est le principal responsable des infections respiratoires chez les poulets et a un impact significatif sur l'industrie avicole (**Cook et al, 2012**). Le virus (MHV) Mouse 7 Hepatitis Virus peut provoquer une hépatite ou une encéphalite selon la souche virale ; il infecte les souris (**Weiss, 2011**).

De nombreux coronavirus infectent les animaux. Parmi eux, l'Alphacoronavirus porcine Epidemic Diarrhea Coronavirus (PEDV) a été à l'origine d'un grand nombre de décès de porcelets dans les élevages porcins aux États-Unis et en Asie en 2013 (**Wang et al,2020**). Les coronavirus ayant la capacité d'infecter les êtres humains sont les HCoV-229E, HCoV-NL63 appartenant à Alphacoronavirus et HCoV-OC43, HCoV-HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV, et le SARS-CoV-2 appartenant aux Betacoronavirus (**Cui,2021**). Trois coronavirus émergents sont hautement pathogènes le SARS-CoV et le MERS-CoV et le SARS-CoV-2. Ils provoquent de graves complications respiratoires humaines et les quatre autres coronavirus humains (HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 et HKU1) induisent des maladies respiratoires légères chez les hôtes immunocompétents, bien que certains puissent provoquer des infections graves chez les nourrissons, les jeunes enfants et les personnes âgées (**Dhama et al,2020**).

Selon les données de séquence actuelles, les coronavirus humains sont d'origine animale essentiellement la chauve-souris pour le SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, HCoV-NL63 et HCoV-229E. La chauve-souris du genre *Rhinolophus* (Rhinolophidés) est l'hôte animal primaire du SARS-CoV appartient à la famille des Vespertilionidae (Vespertilionidés). Tandis que, HCoV-OC43 et HKU1 doivent probablement provenir des rongeurs. Les animaux domestiques peuvent jouer un rôle important en tant qu'hôtes intermédiaires activant le virus pour le transmettre aux humains (**Yang et al,2020**)

I.2.3. Origine du SRAS-CoV-2 :

Le génome du SARS-CoV-2 présente, 79,6 % et près de 50 % de similitude avec les coronavirus de type SARS-CoV et MERS-CoV, respectivement (**Zhou et al,2020, Zhang et al,2020**). Le SARS-CoV-2 présente 96 % d'homologie au niveau du génome entier avec le coronavirus de la chauvesouris (**Xiong et al,2020**). Il existe sept domaines de réplication

conservés dans le gène ORF1ab du SARSCoV-2 qui partagent une identité de séquence de 94,4 % avec le SARS-CoV. En outre, une courte région RdRp provenant d'un coronavirus de chauve-souris appelé BatCoV RaTG13 a démontré une identité de séquence élevée avec le SARS-CoV-2 (Tang *et al*,2020).

Le séquençage complet de cet ARN a donné lieu à une concordance de séquence génomique complète de 96,2 %. La protéine de liaison aux récepteurs spike S du SARS-CoV2, qui présentait une grande diversité dans d'autres CoV était identique à 93,1 % au gène S de RaTG13, à l'exception de trois courtes insertions dans l'extrémité N-terminale et quatre changements de résidus clés sur cinq dans le motif de liaison aux récepteurs (Tiwari, Mishra 2020). En outre, l'étude de la région codante du génome du SRAS-CoV-2 a montré que les nucléotides et les acides aminés de cette région présentent une ressemblance de 92,67 % et 96,92 % au niveau des nucléotides et 97,82 % et 98,67 % au niveau des acides aminés avec le génome du CoV du pangolin et de la chauvesouris (Zhang *et al*,2020) (Daniloski *et al*,2020). Ces données phylogénétiques soutiennent la théorie de l'origine chauve-souris du SRAS-CoV-2 et que le SARS-CoV-2 pourrait avoir évolué naturellement à partir du coronavirus de chauve-souris RaTG13 (Harapan *et al*,2020). Cependant, des recherches supplémentaires sont encore nécessaires pour clarifier la présence d'un hôte intermédiaire qui a favorisé la transmission du virus, car certains éléments indiquent que le virus n'a pas été transmis de la chauve-souris à l'homme (Varga *et al*,2021).

I.2.4. Structure et génome du SARS-CoV-2 :

- **Structure du virus :**

La particule virale du SARS-CoV-2 est sphérique avec une taille moyenne de 120 nm (Prasad ,2020), un aspect en couronne des spicules de l'enveloppe virale en microscopie électronique d'où le nom de Coronavirus (Bonny *et al*,2020). La nucléocapside est constituée de la protéine de capsid (N) complexée à l'ARN viral, est protégée par une enveloppe phospholipidique portant à sa surface la glycoprotéine de surface : la protéine Spike (S), protéine d'enveloppe (E) ainsi que la matrice (M) (Li,2016). L'entrée des coronavirus dans les cellules hôtes est médiée par la glycoprotéine Spike (protéine S (Walls *et al*,2020) (Figure 1).

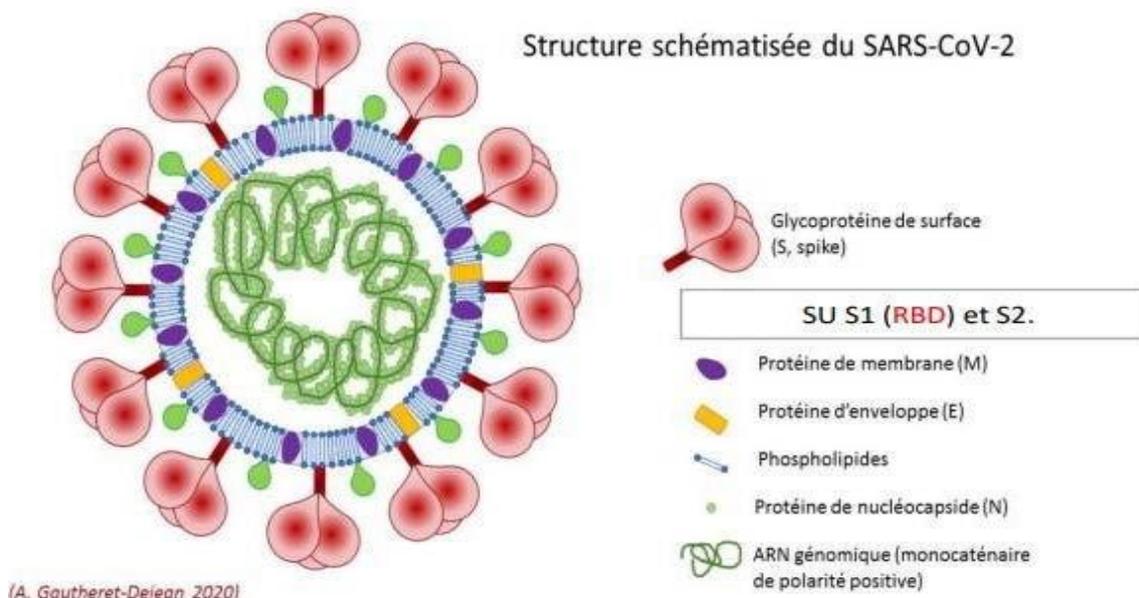


Figure 1 : Structure schématisée du SARS-CoV-2 (Walls *et al*,2020)

Les glycoprotéines Spike transmembranaires forment des homotrimères qui dépassent de la surface virale. La glycoprotéine Spike est essentielle pour l'entrée des coronavirus et constitue donc une cible antivirale. La protéine S est composée de deux sous-unités fonctionnelles, dont les sous-unités S1 et S2. La sous-unité S1 est constituée d'un domaine N terminal (NTD) et un domaine de liaison au récepteur (RBD) (Figure 2).

Dans l'ensemble, la structure de la protéine S du SARS-CoV-2 ressemble à celle de la protéine S du SARS-CoV. Dans la conformation de préfusion, les sous-unités S1 et S2 restent liées de manière non covalente. Différents types de coronavirus utilisent des domaines spéciaux dans la sous-unité S1 pour reconnaître différents récepteurs d'entrée. Dans le cas du SARS-CoV et SARS-CoV-2, pour pénétrer dans les cellules hôtes, ils reconnaissent le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) sur les cellules hôtes à travers le domaine de liaison au récepteur (RBD) (Figure 3).

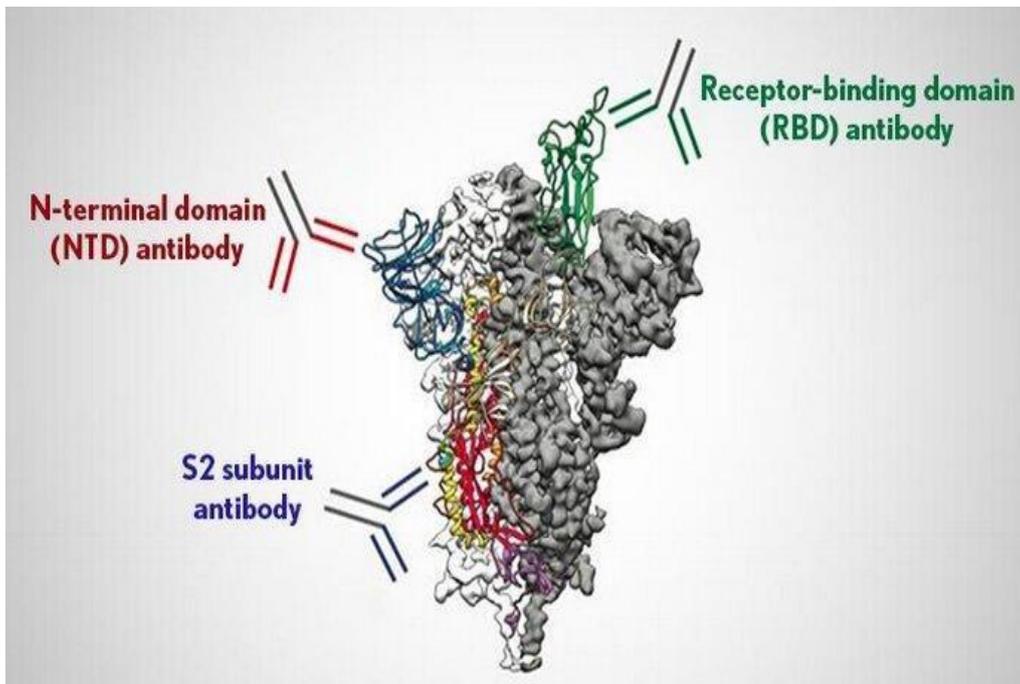


Figure 2 : Le domaine RBD (receptor binding domain) est la région de la protéine spike Entrant en contact avec le récepteur cellulaire ACE2 qui sert de porte d'entrée au SARS-CoV2 dans les cellules qu'il infecte (Grant *et al*,2020).

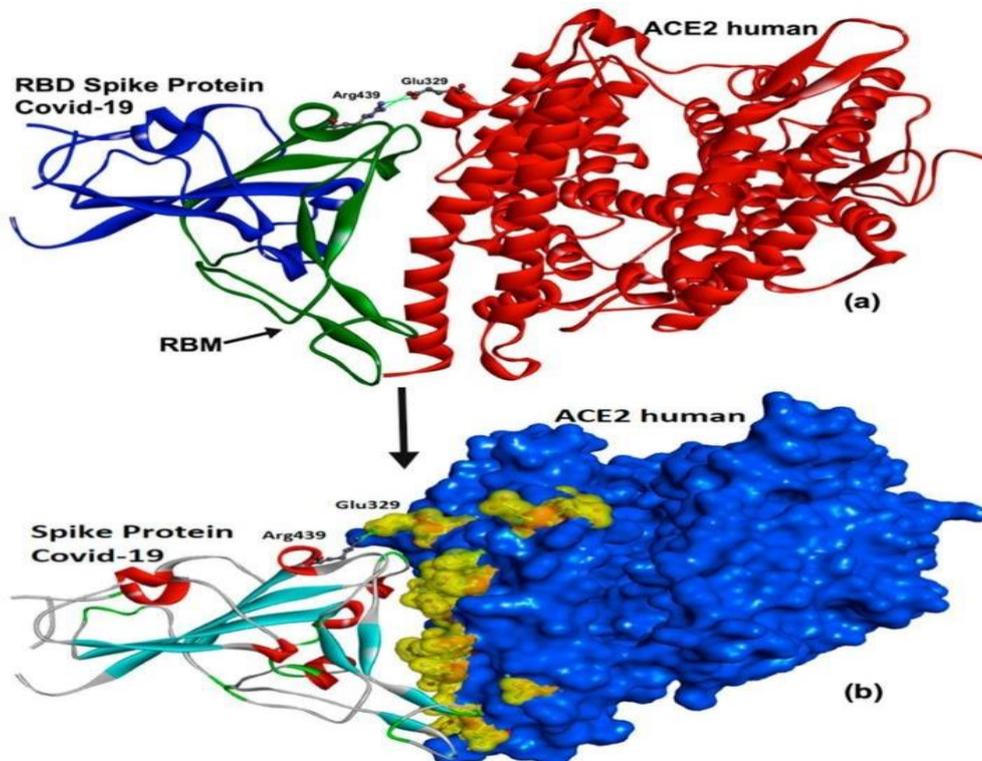


Figure 3 :(a) Structure du domaine de liaison au récepteur (RBD) de la protéine S du SARS-

CoV-2. (Rubans bleu) complexé avec l'ACE2 humaine (rubans rouge). Le ruban vert indique le motif de liaison au récepteur (RBM) dans les résidus d'acides aminés 424-494 ou 438-504. (b) Le site actif de l'ACE2 (couleur jaune) qui interagit directement avec le RBD de la protéine S du SARS-CoV-2. L'interaction entre la protéine S de SARS-CoV-2 et hACE2 est stabilisée par une liaison hydrogène (lignes vertes) entre Arg439 (protéine S de SARS-CoV2) et Glu329 (hACE2) (**Gupta et al,2020**)

La protéine S présente deux formes de structure, dont l'état fermé et l'état ouvert. À l'état fermé, les trois motifs de reconnaissance ne dépassent pas de l'interface formée par trois protomères de la protéine S.

Dans l'état ouvert, le RBD est dans la conformation "up « en haut. L'état ouvert est nécessaire pour la fusion de la protéine du SARS-CoV-2 et des membranes de la cellule hôte, facilitant ainsi la pénétration du SARS-CoV-2 dans les cellules hôtes (**Grant et al,2020**). La Glycoprotéine S est à la base de la plupart des candidats vaccins ; elle se lie aux récepteurs membranaires des cellules hôtes via son RBD et assure une fusion virale avec les cellules hôtes (**Neuman et al,2011**). Son principal récepteur est l'ACE2, bien qu'une autre voie via CD147 ait également été décrite. Les glycanes attachées à la protéine S aident le virus à se fixer initialement à la cellule hôte et agissent comme un manteau qui aide le virus à s'échapper du système immunitaire de l'hôte.

En fait, une étude a montré que les glycanes couvrent environ 40 % de la surface de la protéine de pointe. Cependant, l'ACE2-RBD s'est avéré être l'épitope le plus grand et le plus accessible (**Nal et al,2005**). Ainsi, le vaccin cible le domaine de liaison au récepteur de la glycoprotéine Spike (essentiellement le RBD), à condition qu'il reste accessible et stable dans le temps. Par conséquent, il est important de surveiller l'introduction de toute mutation qui pourrait compromettre la potentielle efficacité d'un vaccin candidat. La protéine M est la protéine virale la plus abondante présente dans la particule du virion, donnant une forme définie à l'enveloppe virale (**Schoeman,2019**), elle se lie à la nucléocapside et agit comme un organisateur central de l'assemblage des coronavirus (**Nieto-Torres et al,2009**).

Les protéines M des coronavirus sont très diverses en termes de contenu en acides aminés, mais conservent une similarité structurelle globale au sein des différents genres, elle possède trois domaines transmembranaires, flanqués d'une courte extrémité aminée à l'extérieur du virion et d'une longue extrémité carboxyl terminale (**DeDiego et al,2007**).

La protéine E du coronavirus est la plus petite des principales protéines structurales (**Chang et al,2006**), elle joue un rôle dans l'assemblage, la pathogenèse et la libération du virus (**Sheikh et al,2020**). Il s'agit d'un petit polypeptide membranaire intégral qui agit comme une

viroporine (canal ionique) (**McBride ,2014**). L'absence de cette protéine est liée à l'altération de la virulence des coronavirus en raison de changements dans la morphologie et le tropisme (**Fan et al,2005**).

La protéine N des coronavirus est polyvalente. Parmi plusieurs fonctions, elle joue un rôle dans la formation de complexes avec le génome viral, facilite l'interaction avec la protéine M nécessaire lors de l'assemblage du virion, et améliore l'efficacité de la transcription du virus (**Stohlman et al,1988**) (**You et al,2005**). Elle possède trois domaines différents et extrêmement conservés, à savoir un domaine N terminal (NTD), un domaine de liaison à l'ARN ou une région de liaison (LKR), et un domaine carboxyl-terminal (CTD) (**Cui et al,2015**). Le NTD se lie à l'extrémité 3' du génome viral, peut-être par l'intermédiaire d'interactions électrostatiques, et est très divergente à la fois en longueur et en séquence (**l'émergence sans fin des variants 2022**). Le LKR peut interagir directement avec l'ARN in vitro et responsable de la transduction du signal cellulaire (**MohdGazzali ,2020**) (**Wu et al,2020**) Il module également la réponse antivirale de l'hôte en agissant comme un interféron (IFN) et un antagoniste de l'ARN (**Naqvi et al,2020**).

• Génome

Le génome est constitué d'un brin d'ARN de polarité positive pour interagir avec la nucléoprotéine de capsid (N) pour former une nucléocapside en forme d'hélice (**Grant et al,2020**).

En effet, le SARS-CoV-2 est un virus à ARN simple brin de polarité positive d'environ 30 Kb et sa structure génomique suit les caractéristiques des gènes de coronavirus connus (**Kim et al,2020**). La poly protéine ORF1ab couvre les deux tiers du génome viral est clivée en de nombreuses protéines non structurales (nsp1 à nsp16). La troisième partie du génome du SRAS-CoV-2 code pour les principales protéines structurales ; Gp spike (S), enveloppe (E), nucléocapside (N), et membrane (M). En outre, six ORF, à savoir ORF3a, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8 et ORF10, n'ont pas de fonction connue (**Rice,2004**) (Figure 4).

Nsp1 assure la médiation du traitement de l'ARN et la réplication. Nsp2 module la voie de signalisation de la survie de la cellule hôte. Nsp3 est censé séparer la protéine traduite. Nsp4 contient le domaine transmembranaire 2 (TM2) et assure le réarrangement de la membrane. Nsp5 participe au processus de la poly protéine pendant la réplication. Nsp6 est un domaine transmembranaire présumé domaine. La présence de nsp7 et nsp8 augmente de manière significative l'association de nsp12 et de l'ARN modèle-primaire. Nsp9 fonctionne comme une protéine de liaison à l'ARNss. Nsp10 est critique pour la méthylation de la coiffe

des ARNm viraux. Nsp12 contient l'ARN polymérase ARN dépendante (RdRp), qui est un élément critique de la réplication/transcription des coronavirus. Nsp13 se lie à l'ATP et le domaine de liaison au zinc de nsp13 participe au processus de réplication et de transcription. Nsp14 est un domaine exoribonucléase de relecture. Nsp15 possède une activité endoribonucléase dépendante du Mn (2+). Nsp16 est une 2'-Oribose méthyltransférase (Zhang *et al*,2021)

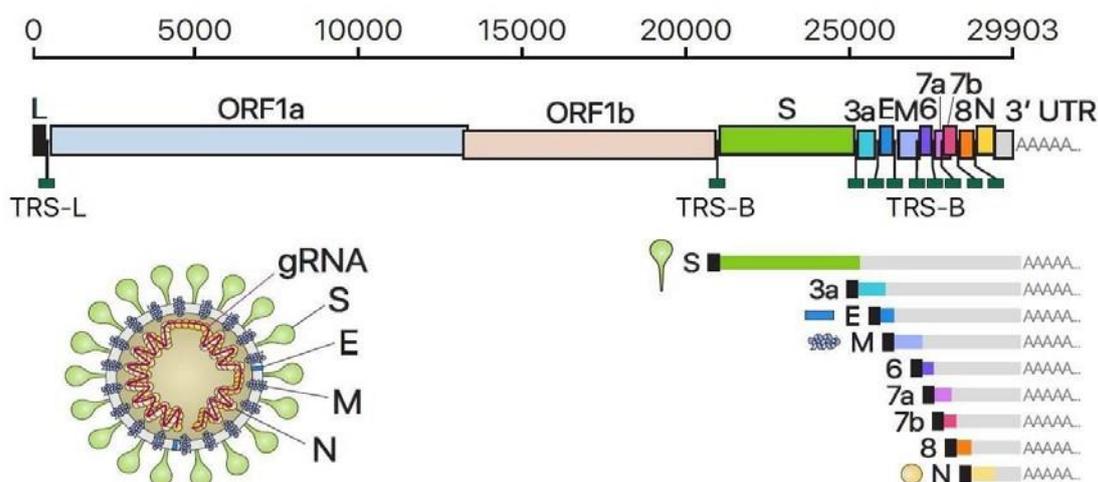


Figure 4 : Présentation schématique de l'organisation du génome du SRAS-CoV-2, des ARNm sous génomiques canoniques et de la structure du virion (Rice,2004).

I.2.5. Cycle de réplication virale du SARS-CoV-2 :

Le cycle du virus dans la cellule hôte se répartit en trois grandes étapes : L'entrée du virus dans la cellule hôte, suivie de la réplication du génome et ensuite la libération de nouveaux virions. La capacité d'un virus à entrer dans une cellule hôte pour l'infecter, repose sur la reconnaissance d'un récepteur que celle-ci exprime à sa surface. Dans le cas du SARSCoV-2, c'est la protéine S qui est responsable de la reconnaissance du récepteur cellulaire et elle utilise comme récepteur l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) (Figure 5).

L'ACE2 est une metalloproteinases composée de 805 acides aminés, caractérisée comme un contre-régulateur du système rénine-angiotensine-aldostérone, responsable du clivage des angiotensines I et II en peptides (angiotensine (1-9) et (1-7), respectivement) dont les effets s'opposent aux actions vasoconstrictrices/pro-inflammatoires des angiotensines générées par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) (Hoffmann *et al*,2020) (Gupta *et al*,2020)

Le cycle de vie du SARS-CoV-2 commence par la liaison du domaine de liaison au récepteur (RBD) de la sous-unité S1 de la protéine spike à l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) qui est exprimée à la surface des cellules épithéliales des voies respiratoires et de l'intestin (**Chakraborty,2020**) (**Coutard et al,2020**). Au contact des cellules, le virus pénètre dans les cellules hôtes par fusion directe des membranes de la cellule hôte et l'enveloppe du virus et/ou par endocytose en utilisant la sous-unité S2 de la protéine spike (**Hoffmann et al,2020**) (**Wu et al,2020**).

La protéine spike est synthétisée sous la forme d'un précurseur inactif et les clivages ultérieurs par les protéases cellulaires provoquent des changements de conformation de la sous-unité S2, rendant la protéine spike fonctionnellement active et prête pour la fusion membranaire ultérieure (**Wang et al,2020**). Dans une entrée par fusion directe, la protéine spike est clivée par la protéase transmembranaire sérine 2 (TMPRSS2) à proximité de l'ACE2 après la formation du complexe spike-ACE2, ce qui déclenche la fusion membranaire avec la cellule hôte et la libération du génome viral dans les cellules hôtes (**Buratta et al,2020**). D'autres protéases telles que la trypsine, la plasmine et le facteur Xa peuvent également contribuer à ce processus (**C.F. Baer,2008**) (**Sanjuan,2010**).

Le virus peut également pénétrer dans la cellule hôte par un processus médié par l'endocytose. L'activation de la protéine spike semble avoir lieu dans les endosomes par l'action de la furine et de la cathepsine B/L (CatB/L) dans les endo-lysosomes (**C.F. Baer,2008**) (**Gribble et al,2020**), ce qui favorise finalement la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de la cellule hôte et la libération de l'ARN viral.

L'ARN viral génomique dans le cytoplasme des cellules infectées peut être traduit en deux polyprotéines, pp1a et pp1ab (**J.W. Drake,1993**), qui sont traitées par deux protéases virales, la protéase de type 3C (3CLpro), également connue sous le nom de protéase principale (Mpro), et la protéase de type papaine (PLpro), pour générer 16 protéines non structurales (NSP) matures (**C.F. Baer,2008**) (**Eigen,2020**). Parmi elles, la nsp12, également appelée ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp), s'assemble avec plusieurs NSP pour former un complexe de réplication et de transcription (RTC) ancré sur des vésicules à double membrane (DMV), responsable de la réplication et de la transcription du génome viral (**Gorbalenya,2006**). Les produits de l'ARN viral sont transportés vers le cytosol par un complexe de pores moléculaires à travers la double membrane (**McAloon et al,2020**). Ensuite, les protéines structurales, notamment S, E et M (sont traduites dans le réticulum endoplasmique (RE) et transportées vers l'appareil de Golgi pour l'assemblage des virions. L'ARN génomique viral et la protéine

structurelle N sont bio synthétisés et assemblés dans la nucléocapside dans le cytoplasme, puis associés aux protéines structurelles virales pour produire de nouveaux virions. Enfin, les virions sont libérés de la cellule infectée par exocytose (**Pedersen,2020**).

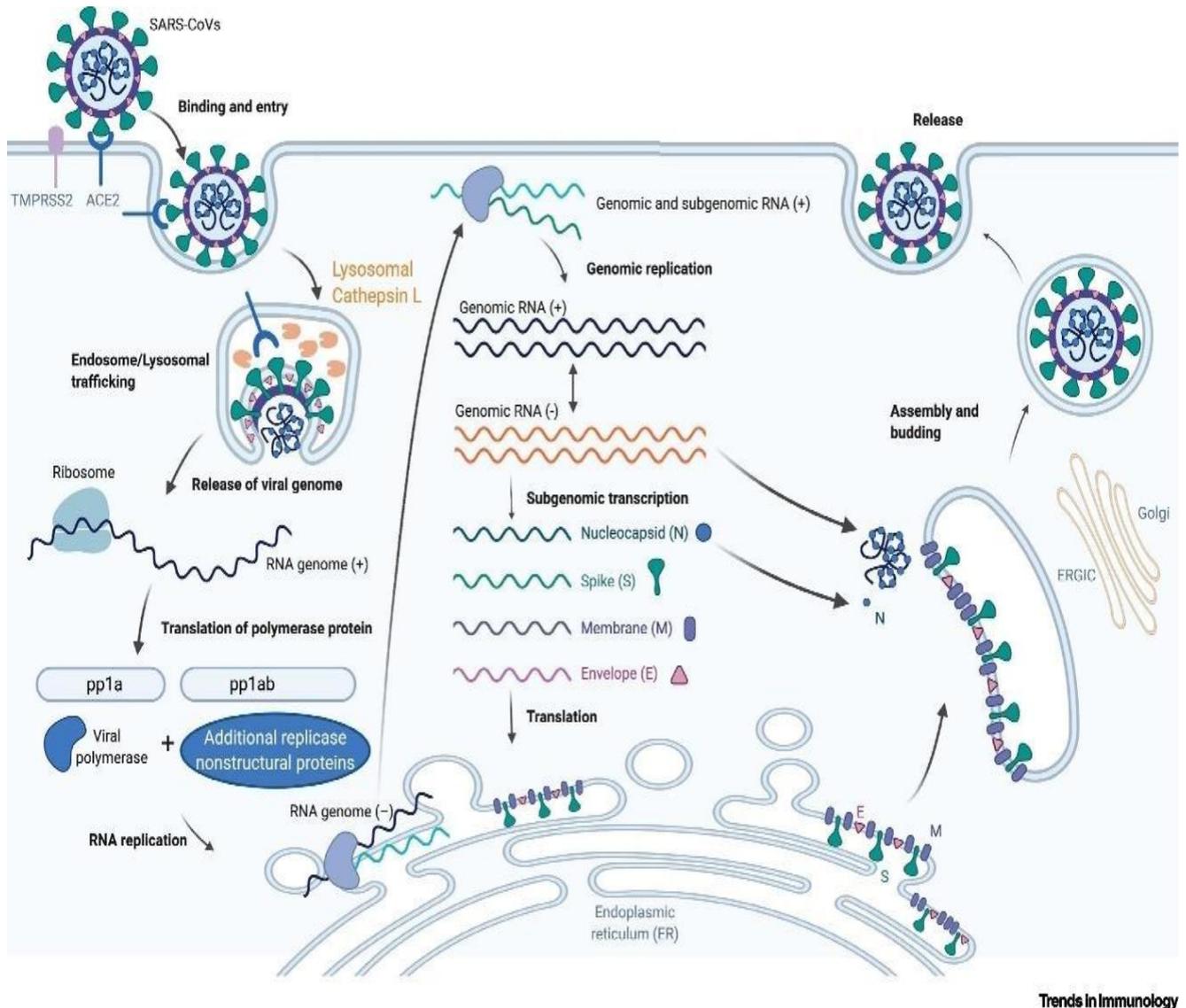


Figure 5 : Schéma montrant le cycle de vie du SARS-CoV-2 dans les cellules hôtes (**Buratta et al,2020**)

I.2.6. Variabilités génétiques du SARS-CoV-2 :

La variabilité génétique des virus présente un intérêt considérable sur le plan médical et biologique, car elle a un impact important non seulement sur la prévention et le diagnostic des maladies infectieuses, mais aussi pour les potentielles perspectives de thérapie. Les mutations, délétions et recombinaisons sont considérées comme les origines de la variabilité génétique du SARS-CoV-2. Les mutations sont le fondement de l'évolution et la source de la variation génétique puisqu'elles peuvent fournir la variabilité nécessaire sur laquelle la sélection naturelle peut agir et générer de la diversité (**Liu et al,2020**). Les virus à ARN sont particulièrement

susceptibles d'avoir des taux de mutation élevé pendant la réplication du génome et sont le plus souvent sans effets. Parfois, ces taux élevés sont corrélés à une transmissibilité et / ou un échappement immunitaire accrue, des caractéristiques qui sont considérées comme bénéfiques pour les virus (Su *et al*,2020).

Il est connu que dans la plupart des virus à ARN, l'ARN polymérase ARN dépendante n'a pas d'activité correctrice, à quelques exceptions dont les coronavirus tels que le SARSCoV-2. En plus des mutations, la recombinaison génomique est un événement courant du processus de réplication chez les coronavirus et peut jouer un rôle important dans la génération de la diversité (Varga *et al*,2020)). La recombinaison est dirigée par la protéine non structurale nsp14 3-5' exoribonucléase (Nsp14-ExoN). Il a été démontré que l'inactivation génétique in vitro de Nsp14-ExoN diminuait de manière significative la fréquence et les modèles modifiés de recombinaison dans les cellules infectées et les virions libérés (Maccio *et al*,2021). Ainsi, le taux élevé de mutations observé dans les virus à ARN, dû à l'absence ou la déficience de l'activité de relecture conduit à une hétérogénéité génétique qui les aide à s'adapter et à surmonter les défis environnementaux tels que le changement d'hôte, le traitement antiviral et les réponses immunitaires, mais d'un autre côté, l'accumulation de mutations délétères excessives peut entraîner des erreurs qui peuvent conduire à l'extinction de l'espèce virale (Lukassen *et al*,2020) (Nalbandian *et al*,2021). Ainsi, l'environnement peut exercer une pression sélective sur les mécanismes impliqués dans l'ajustement du taux de mutation en contrôlant le processus de réplication des organismes à grand génome, notamment les coronavirus comme le SRAS-CoV-2 qui, parmi d'autres virus à ARN, contiennent des génomes plus grands et présentent une activité 3' -5' Exon différente de celle des virus à génome plus court où cette activité est absente (Fink,2005).

Les mutations les plus importantes SARS-CoV 2 ont un impact sur la transmissibilité des souches, la sévérité de la maladie, le diagnostic virologique ainsi que l'efficacité des vaccins.

.2.7. Variants du SARS-CoV-2 :

Il existe plusieurs dénominations en fonction des instances : GISAID, Nextstrain, Pango et l'OMS (Lettres alphabet grec) pour nommer et suivre les lignées génétiques du SARS-CoV-2 avec une évolution et changement rapide même pour un même variant. Les principaux variants sont : **Variant delta, variant mu, Omicron.**

I.3. Épidémiologie

I.3.1. Modes de transmission

Comprendre le mode, l'heure et le type de transmission du SARS-CoV-2 est essentiel pour le développement des mesures efficaces de santé publique et de prévention des infections visant à briser la chaîne de transmission. Le SARS-CoV-2 se transmet principalement d'une personne à l'autre par contact direct, indirect ou étroit par les gouttelettes respiratoires, la salive ou par les sécrétions respiratoires, soit en étant inhalé, soit en se déposant sur les surfaces muqueuses, y compris les aérosols produits lors de la toux et de la parole.

Le virus peut être transmis indirectement en touchant une surface ou un objet préalablement contaminé par le virus, puis en se touchant le visage, les yeux ou la bouche. A noter que la transmission par contact avec les objets contaminés est considérée comme possible, bien qu'on n'ait pas isolé de virus cultivable en situation réelle (**Pan et al,2020**).

I.3.2. Contagiosité et période d'incubation :

La période d'incubation est estimée entre 1 et 14 jours, avec une médiane de 5 à 6 jours (**Guilliams,2013**). L'infectiosité culmine environ 1 jour avant l'apparition des symptômes et diminue dans les 7 jours. Le taux de reproduction de base (R_0) de la maladie, défini comme le nombre attendu de nouveaux cas d'une maladie directement générés par une personne infectée dans une population où tous les individus sont sensibles à l'infection était estimé début 2020, d'après les données de l'épidémie en Chine, à 3,28 en moyenne. Le R_0 est influencé par des facteurs biologiques tels que : • La contagiosité après infection 29 • La voie d'infection et le mode de transmission, qui reste plus ou moins constants au cours d'une épidémie • La fréquence des contacts entre les individus de la population et la probabilité qu'un contact entre un individu infectieux et un individu sensible entraîne une infection.

L'interprétation est généralement présentée comme simple ; on s'attend à ce qu'une pandémie continue et que l'agent infectieux réussisse à infecter davantage d'hôtes si le R_0 a une valeur supérieure à 1, et à ce qu'elle diminue si le R_0 est inférieur à 1.

I.4. Histoire naturelle de la COVID-19 :

I.4.1. Physiopathologie :

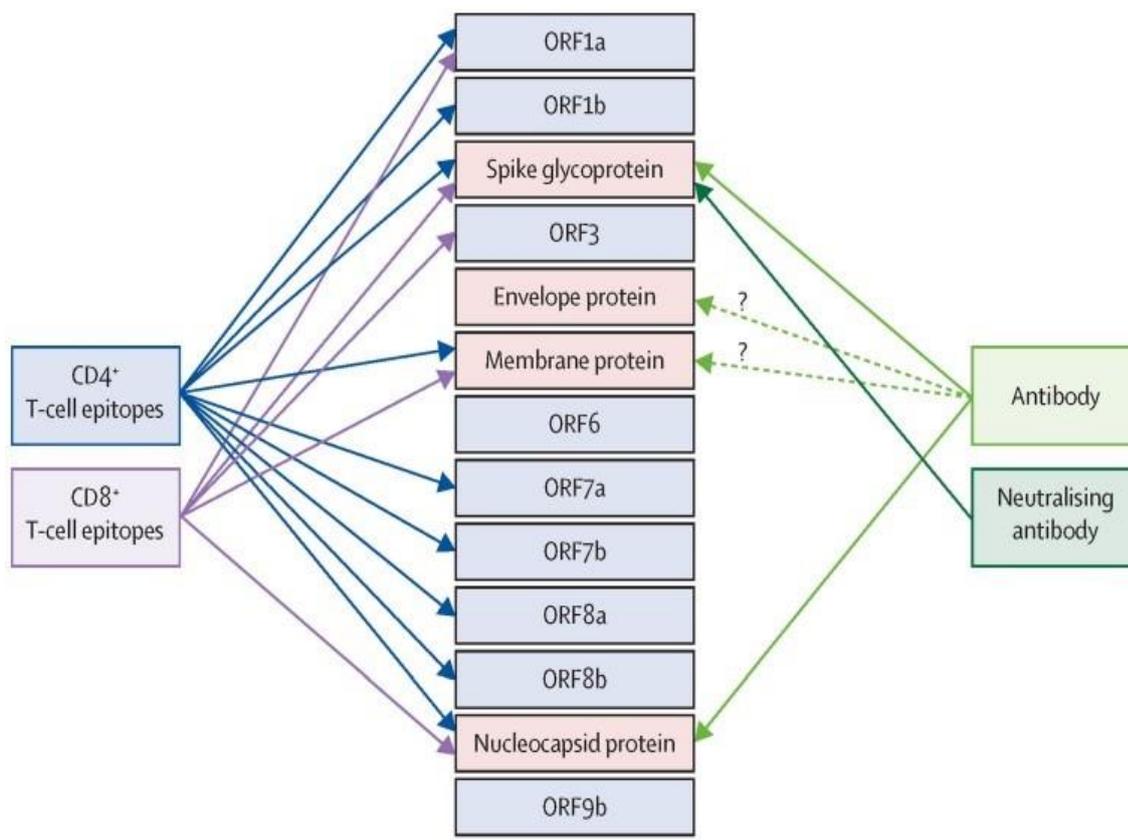
La pathogenèse du SRAS-CoV-2 est caractérisée par deux aspects principaux très diversifiés, les principaux sont résumés à travers les points suivants :

- Le déséquilibre de la réponse immunitaire innée et acquise avec une sur activation critique du système immunitaire inné conduisant à un syndrome de libération de cytokines, également connu sous le nom de "tempête de cytokines" (**Bajaj et al,2021**).
- La liaison du SRAS-CoV-2 au récepteur ACE-2, un important régulateur du système rénine-angiotensine-aldostérone et la réplication du SARS-CoV-2 avec l'effet cytopathique qu'il engendre (**Giamarellos et al,2020**). L'évolution sévère et l'issue potentiellement létale du SRAS-CoV-2 sont généralement prédites par la présence d'un dérèglement des deux facteurs susmentionnés (**Ruan et al,2020**).
- Outre les mécanismes physiopathologiques susmentionnés, il a également été démontré que le SRASCoV-2 entraîne des modifications fonctionnelles et structurelles généralisées de l'endothélium, similaires à celles de l'endothélite. Elles sont déclenchées par des cytokines libérées par le système immunitaire inné et/ou par une infection directe des cellules endothéliales (82,83) (**Suzuki et al,2003**) (**Lei et al,2021**). Ici, les petits vaisseaux semblent être particulièrement touchés, de sorte que l'endothélite induite par COVID-19 est probablement une vasculite des petits vaisseaux dans laquelle les gros vaisseaux ne semblent pas être touchés (**Chen,2021**).
- En plus du récepteur ACE-2, la protéase TMPRSS2 (Transmembrane Serine Protéase 2) est également nécessaire à la pénétration du virus dans la cellule. Cette protéase est principalement exprimée sur les cellules épithéliales, par exemple dans le poumon, le rein, le foie et l'intestin (**Wu C et al,2020**) (European Centre for Disease Prevention and Control 2020 : **ECDC**)
- Dans l'évolution délétère d'une infection à COVID-19, une évolution bi ou tripartite a été fréquemment observée. Cette évolution peut également être assez bien décrite sur le plan pathogénique en relation avec le système immunitaire (Center Disease Control and Prevention 2021 : **CDC**), de sorte que l'on peut supposer, sur la base de la corrélation temporelle, que le système immunitaire en est responsable. Après l'infection des cellules exprimant les récepteurs de surface des enzymes de conversion de l'angiotensine 2 (ACE-2) et TMPRSS2 par le SRAS-CoV2, le virus se réplique activement et est libéré de la cellule hôte (**Thakur et al,2021**) ce qui entraîne une fuite vasculaire, qui peut consécutivement libérer d'autres substances (par exemple l'ATP) et ainsi influencer d'autres cellules voisines telles que les cellules épithéliales et endothéliales et les macrophages alvéolaires. Cela déclenche un environnement pro inflammatoire avec la libération de cyto- et de chimiokines, qui attirent les monocytes, Les macrophages et les lymphocytes T sur le site de l'infection, déclenchant ainsi une nouvelle inflammation et mettant en marche une boucle de rétroaction pro-

Inflammatoire dans le sens d'un cercle vicieux. Dans les 5 à 6 jours suivant l'apparition des symptômes, la charge virale du SRAS-CoV-2 atteint son maximum (**Dorjee et al,2020**).

- Dans le cas d'une réponse immunitaire adaptée, le système immunitaire inné, composé de macrophages résidents, de cellules dendritiques, de granulocytes et de cellules NK, constitue la première défense (**Berger,2020**). Ces cellules présentatrices d'antigènes (CPA) présentent l'antigène à leur surface par l'intermédiaire des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et entraînent ainsi l'activation ultérieure des cellules B et T (virales) spécifiques de l'agent pathogène avec la formation d'anticorps spécifiques de l'antigène. Chez les individus immunocompétents, les cellules infectées par le virus peuvent être éliminées par les cellules T cytotoxiques avant que celui-ci ne se propage davantage. En outre, les anticorps neutralisants anti-Spike, les macrophages alvéolaires et les cellules apoptotiques entraînent la clairance du virus et ne causent que des dommages mineurs aux poumons, ce qui conduit à un rétablissement complet après le premier pic au jour 5-8, comme on le constate chez la majorité des personnes infectées par le SRAS-CoV-2.
- Dans le cas d'une réponse immunitaire déficiente (comme celle observée dans l'immunosénescence) (**Paybast,2020**) ou d'une surinfection bactérienne, la boucle de rétroaction pro inflammatoire peut conduire à une accumulation pulmonaire supplémentaire de cellules immunitaires, entraînant une surproduction de cytokines pro-inflammatoires avec hyper inflammation (**Hess,2020**). Cette hyper inflammation peut endommager le tissu pulmonaire et ainsi entraîner une fibrose pulmonaire, comme décrit ci-dessous. La généralisation de ce qu'on appelle l'orage de cytokines entraîne une atteinte systémique de plusieurs organes (**Trejo-Gabriel-Gal,2020**). Par conséquent, la gravité de la maladie n'est pas seulement déterminée par l'infection virale avec atteinte des voies respiratoires, mais aussi par la réponse immunitaire généralisée de l'hôte.
 - Outre le système immunitaire, le système rénine-angiotensine-aldostérone joue également un rôle déterminant, comme nous l'avons déjà décrit plus haut. Cela conduit à un cercle vicieux de production d'angiotensine II (Ang II), qui a également un effet pro-inflammatoire (**Lee,2020**), et à la régulation négative du récepteur ACE2 (**Hess,2020**), qui affecte principalement l'endothélium artériel et veineux. Une infection directe de l'endothélium vasculaire a également été décrite (**Huo,2020**), ce qui réduit la densité des récepteurs ACE2. Cela crée un environnement pro adhésif pour l'agrégation et la migration des macrophages, des leucocytes et des lymphocytes. Cela entraîne à son tour la libération d'une variété de cytokines ainsi que de facteurs de coagulation.

Les différentes cibles de la réponse immunitaire humorale et cellulaire anti-SARS-CoV-2 sont résumées dans la figure 6.



Gregory A Poland,, *The Lancet* November 2020

Figure 6 : Schéma résumant les cibles virales de l'immunité humorale et cellulaire dirigée contre le SARS-CoV-2 (Wu *et al*,2020)

I.4.2. Manifestations cliniques :

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% (Huo,2020) (Figure 7).

Les caractéristiques cliniques des patients atteints de la COVID-19 allaient de l'asymptomatique dans les cas légers au syndrome de détresse respiratoire aiguë et au décès dans les cas graves. Les symptômes les plus courants du COVID-19 sont les suivants : signes classiques d'infection respiratoire : fièvre et toux accompagnées de myalgies, céphalées, maux de gorge, congestion nasale, nausées, vomissements, diarrhées, agueusie ou anosmie (Wu *et al*,2020) (Huang *et al*,2020). Les comorbidités fréquemment signalées pour la COVID-19 sont l'hypertension, l'obésité, le diabète et les maladies cardiovasculaires (Center Disease Control

and Prevention 2021 : **CDC**). Les facteurs de risque de mortalité étaient l'âge (≥ 60 ans), le sexe masculin, les antécédents de tabagisme, l'hypertension, le diabète, les maladies cardiaques et les maladies rénales chroniques (**Thakur et al,2021**).

La COVID-19 affecte principalement le système respiratoire, car le virus SRAS-CoV2 pénètre et se réplique dans la muqueuse épithéliale des voies respiratoires supérieures. La maladie peut entraîner des lésions myocardiques et des complications arythmiques (107,108), des complications neurologiques, telles que des myalgies, des maux de tête, vertiges, troubles de la conscience, hémorragie intracrânienne, et l'hyposomnie (**Dorjee,2020**) (**Berger,2020**), et même des accidents vasculaires cérébraux (**Paybast,2020**) (**Hess,2020**).

Des symptômes digestifs et des lésions hépatiques (**Trejo-Gabriel-Gal,2020**), hypercoagulabilité et complications thrombotiques (**Lee,2020**) ont également été signalés. Les patients critiques pourraient rapidement évoluer vers un SDRA, une acidose métabolique difficile à corriger, un choc septique, un dysfonctionnement de la coagulation et une défaillance fonctionnelle de plusieurs organes. Les complications graves comprenaient le SDRA, l'ARNémie (charge virale détectable dans le sérum du SRAS-CoV-2), la défaillance de plusieurs organes et l'insuffisance cardiaque aigue. Environ 26,1 % des patients ont été admis en soins intensifs en raison de complications causées par COVID-19 (**Haime,2020**).

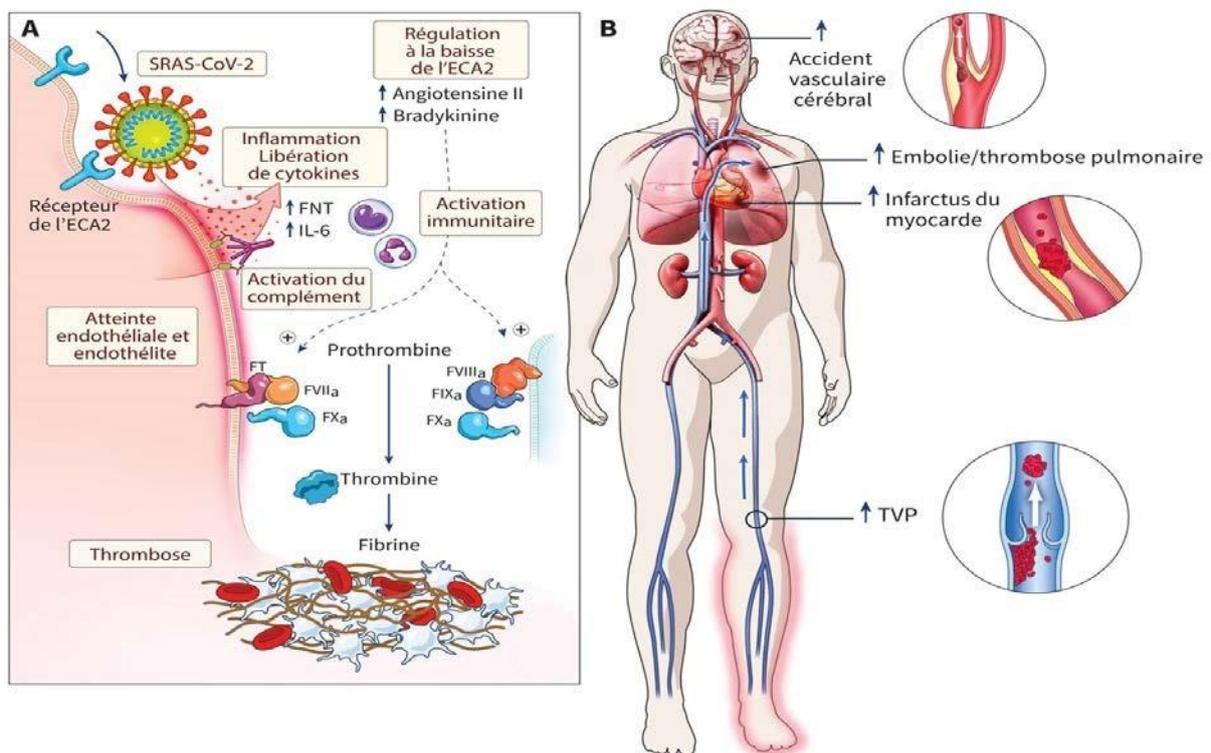


Figure 7 : Schéma résumant les altérations systémiques induites par le SARS-CoV-2.

I.5. Diagnostic virologique du SARS-CoV-2 :

Dès les années 2000, les tests de détection de virus (la plupart difficiles à cultiver) ont été développés à l'aide des techniques moléculaires principalement par PCR en temps réel. Le SARS-CoV-2 repose sur Le diagnostic virologique de l'infection, et comme pour toute infection virale, sur la combinaison de deux types d'approches :

- **L'une, directe**, qui vise à déceler le virus ou ses composants (ARN et protéines), représenté par la RT-PCR
- **L'autre, indirecte**, qui repose sur la mise en évidence d'une réponse immunitaire humorale (anticorps) générée par l'hôte au cours de la Covid-19 (techniques sérologiques) ou la recherche des protéines virales par des anticorps spécifiques (technique antigéniques).

I.6. Traitement :

Les scientifiques du monde entier tentent de trouver et de mettre au point des traitements contre la COVID-19. Les soins de soutien les plus efficaces sont l'oxygénothérapie pour les patients dans un état grave et ceux qui risquent de développer une forme grave de la maladie, ainsi qu'une assistance respiratoire plus poussée, comme la ventilation pour les patients dans un état critique. Par ailleurs, il a été rapporté que la dexaméthasone est un corticostéroïde qui pourrait contribuer à réduire la durée de placement sous respirateur et à sauver des patients dans un état grave ou critique.

Le processus de vaccination est l'approche médicale la plus efficace pour la prévention et le contrôle des maladies. Le développement et l'utilisation réussie de vaccins a non seulement prouvé son efficacité mais a aussi sauvé des millions de vies chaque année et limité de grandes pertes financières notamment en matière de santé publique. Les vaccins antiCOVID-19 ont globalement été développés en un temps record. Les plus connus sont les vaccins à base de virus entier inactivé ainsi que les vaccins à ADN et ARN. Néanmoins, Il est évident que cette situation sanitaire a été une formidable opportunité pour lancer ces nouveaux vaccins à grande échelle.

***M**atériels et méthodes*

Le but de ce travail est d'étudier la variation de différents paramètres biologiques au cours du COVID-19 tout en essayant de comparer ces changements entre les patients sans comorbidité (nommé dans l'étude groupe SCOM) et les patients présentant des pathologies inflammatoires ou métaboliques (nommé groupe COM).

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective qui a intéressé une population de cent (100) patients qui ont été hospitalisés à l'EPH BOUFARIK avec état critique suite à l'infection par le COVID-19. L'étude a été menée au laboratoire central de l'EPH sur une période de trois mois (Janvier 2022 – Mars 2022).

Les paramètres métaboliques et inflammatoires analysée étaient :

- Glycémie
- Bilan rénal : créatinine et l'urée
- Bilan hépatique : bilirubine, transaminases (GOT et GPT), et la phosphatase alcaline (PLA).
- Protéine C- réactif (CRP)
- Taux des leucocytes et des plaquettes
- Facteurs hémodynamiques : Le taux de prothrombine (TP) et l'indicateur de coagulation INR (International Normalized Ratio).

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

• Patients

Notre étude a porté sur un échantillon de 70 patients pour le groupe COM (âgés de 1989 ans avec une moyenne d'âge de 65.36 ± 1.9 ans) et 30 patients pour le groupe SCOM (âgés de 26-70 ans avec une moyenne d'âge de 48.47 ± 2.1 ans).

Les informations démographiques des deux groupes ont été obtenues à partir de leurs fichiers d'hospitalisation et de surveillance (**annexe 1**).

La positivité en RT-PCR pour les deux groupes ainsi que les facteurs de comorbidité sont pris comme facteur d'inclusion, les patients qui ont été hospitalisés mais avec une RT-PCR négative ont été exclus même s'ils ont développé un tableau clinique sévère et caractéristique de la COVID-19.

• Prélèvements nasaux

Le prélèvement, la conservation et le transport appropriés de l'échantillon sont essentiels pour les performances de ce test. Le prélèvement inadéquat des échantillons, leur manipulation et/ou transport incorrects peuvent produire de faux résultats.

Les échantillons sur écouvillon nasopharyngé, sur écouvillon nasal et d'aspiration/lavage nasal peuvent être conservés à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) pendant une période maximale de 24 heures dans du milieu de transport viral ou 48 heures dans une solution physiologique jusqu'à la réalisation de l'analyse RT-PCR. Ou, les échantillons sur écouvillon nasopharyngé, sur écouvillon nasal et d'aspiration/lavage nasal peuvent être conservés réfrigérés (entre 2 °C et 8 °C) pendant une période maximale de 7 jours dans du milieu de transport viral ou une solution physiologique jusqu'à la réalisation de l'analyse RT-PCR.

La procédure et les conditions du prélèvement sont résumées et schématisées dans la partie annexe (**Annexe 2**).

• Prélèvements sanguins

Pour la réalisation des dosages biochimiques et inflammatoires, des prélèvements ont été réalisés, dès l'hospitalisation, sur tubes héparinés et secs. Après centrifugation à 6000 rpm pendant 12 minutes. Le sérum et ou le plasma ont été récupérés et les dosages ont été conservés à +4°C. Les dosages ont été effectués rapidement dans les 24 heures.

II.1.2. Matériel non biologique

Les produits chimiques de bonne qualité analytique, les réactifs et l'appareillage utilisé pour la réalisation des différentes expérimentations sont représentés dans la partie annexe (**Annexe 3**).

II.2. Méthodes**II.2.1. Technique du diagnostic par RT-PCR****• Principe**

Le diagnostic moléculaire confronte trois défis majeurs qui sont la détection de petites quantités d'ARN viral pour réduire le nombre de faux négatifs, la différenciation de signal positif parmi différents pathogènes pour diminuer le nombre de faux positifs et d'avoir un débit important, afin de tester rapidement un grand nombre de patients avec la meilleure fiabilité.

Pour cette raison et compte tenu de la physiopathologie de l'infection à SARS-CoV2, la PCR en temps réel après transcription inverse (RT-PCR) est le test de référence pour le diagnostic précoce chez les patients suspectés d'infection par le SARS-CoV-2 sur des prélèvements par écouvillonnage nasopharyngés ou d'autres échantillons des voies respiratoires supérieures, y compris l'écouvillon de gorge ou, plus récemment, la salive.

La RT-PCR utilise la transcriptase inverse pour retro transcrire les molécules d'ARN en molécules d'ADNc (complémentaire). Ensuite l'ADNc fonctionne comme une séquence modèle pour la réaction PCR.

Le diagnostic est possible en ciblant le gène spike (S) du virus pour différencier entre le SARS-CoV-2 et le Sars-CoV-1, mais avec une sensibilité limitée. La sensibilité a été encore améliorée lors de l'intégration d'autres gènes viraux spécifiques ; l'enveloppe (E), la nucléocapside (N), l'ARN dépendant de l'ARN polymérase (RdRp) et ORF1 (**Huang *et al*,2020**). Une comparaison entre tous les gènes ciblés a révélé que les meilleurs résultats ont été obtenus avec les gènes RdRp, et les recommandations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) préconisent l'utilisation des gènes RdRp, E, N et S dans différentes combinaisons (PCR multiplexe SARS-CoV-2) (**Figure 8**).

La rétrotranscription et l'amplification sont réalisées à l'aide d'un kit de qRT-PCR en une étape utilisant un tube de réaction unique pour l'étape de reverse transcription et l'étape d'amplification, elle minimise les résultats faussement positifs et permet un gain de temps. Il existe différents kits pour le diagnostic moléculaire du SARS-CoV-2 ; semi- automatisé, automatisé ou POC (test unitaire avec extraction, amplification et détection dans une seule cartouche ou cassette). Ce sont des tests essentiellement qualitatifs avec une idée indirecte sur la charge virale à partir du Ct.

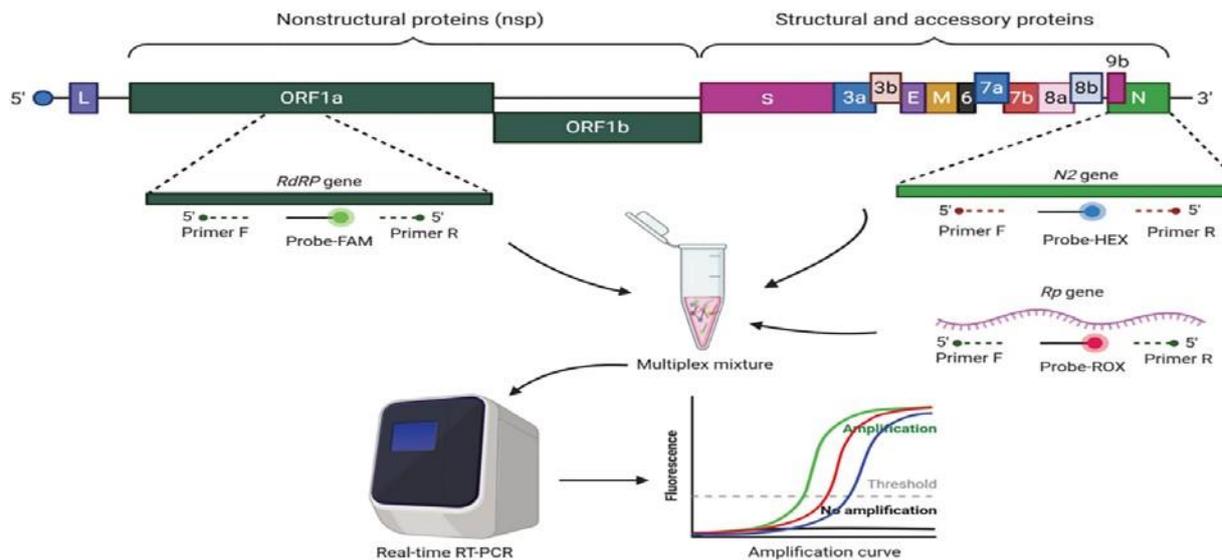


Figure 8. Schéma général de cibles moléculaires amplifiées par la RT-PCR

• Technique

La technique RT-PCR utilisée pour le diagnostic au niveau de l'unité de biologie moléculaire du laboratoire de l'EPH BOUFARIK est réalisée complètement sur un automate en utilisant le kit Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV. L'extraction du matériel génétique viral est entreprise par le kit d'extraction d'ARN Nucléo Spin Dx (Macherey Nagel réf. 740895.50).

Le test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV est un test de diagnostic *in vitro* automatisé pour la détection qualitative et la différenciation de l'ARN des virus de la grippe A, de la grippe B, du RSV et du SARS-CoV-2.

Le test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV est réalisé sur les systèmes GeneXpert. Les amorces et les sondes du test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV (**Figure 9**) sont conçues pour amplifier et détecter des séquences uniques dans ce qui suit :

- Gènes de la nucléocapside (N2)
- L'enveloppe (E) du génome du SARS-CoV-2,

Les systèmes GeneXpert automatisent et intègrent la préparation des échantillons, l'extraction et l'amplification de l'acide nucléique et la détection des séquences cibles dans des échantillons simples ou complexes par PCR en temps réel et tests RT-PCR. Les systèmes comportent un instrument, un ordinateur et un logiciel préchargé pour l'exécution des tests et l'affichage des résultats (**Annexe 4**). Les systèmes nécessitent l'utilisation de cartouches jetables à usage unique qui contiennent les réactifs RT-PCR et hébergent les processus RTPCR. Les cartouches étant closes, la contamination croisée entre les échantillons est réduite au minimum.

Les étapes du test sont résumées par les points suivants (Figure 10) :

- L'échantillon sur écouvillon nasopharyngé, sur écouvillon nasal ou d'aspiration/lavage nasal est prélevé et placé dans un tube de transport contenant 3 ml de milieu transport viral ou 3 ml de solution physiologique.
- L'échantillon est brièvement mélangé en inversant le tube de prélèvement 5 fois. À l'aide de la pipette de transfert fournie,
- L'échantillon est transféré dans la chambre à échantillon de la cartouche Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV.
- La cartouche GeneXpert est chargée sur la plateforme du système GeneXpert, qui effectue le traitement des échantillons et la RT-PCR en temps réel pour la détection de l'ARN viral de façon automatisée et sans intervenants.

Name	Sequences (5'-3')	Length (bases)	PCR product size	Ref.
RdRp gene / nCoV_IP2				
nCoV_IP2-12669Fw	ATGAGCTTAGTCCTGTTG	17	108 bp	1
nCoV_IP2-12759Rv	CTCCCTTGTGTGTTGT	18		
nCoV_IP2-12696bProbe(+)	AGATGTCTTGTGCTGCCGGTA [5']Hex [3']BHQ-1	21		
RdRp gene / nCoV_IP4				
nCoV_IP4-14059Fw	GGTAACTGGTATGATTTCCG	19	107 bp	1
nCoV_IP4-14146Rv	CTGGTCAAGGTTAATATAGG	20		
nCoV_IP4-14084Probe(+)	TCATACAAACCACGCCAGG [5']Fam [3']BHQ-1	19		
E gene / E_Sarbeco				
E_Sarbeco_F1	ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT	18	125 bp	2
E_Sarbeco_R2	ATATTGCAGCAGTACGCACACA	20		
E_Sarbeco_P1	ACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG [5']Fam [3']BHQ-1	20		

Régions d'amplification PCR (positions selon SARS-CoV, NC_004718)

nCoV_IP2 / 12621-12727 gène E / 26141-26253 nCoV_IP4 / 14010-14116

Reverse transcription	55°C	20 min	x1	
Denaturation	95°C	3 min	x1	
Amplification	95°C	15 sec	x50	Acquisition
	58°C	30 sec		
Cooling	40°C	30 sec	x1	

Figure9. Amorces et régions amplifiées sur l'ADNc du virus et le cycle RT-PCR

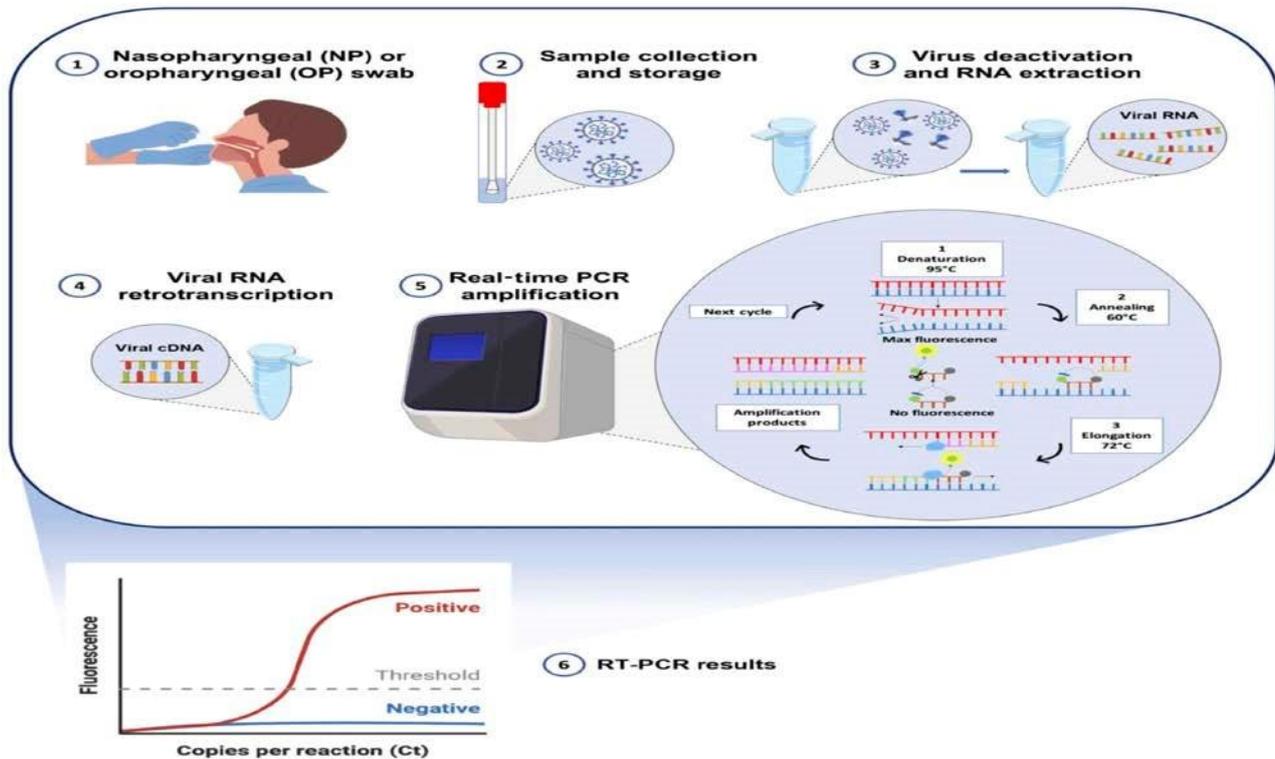


Figure 10. Schéma général de la RT-PCR en temps réel

II.2.2. Techniques de dosage des paramètres métaboliques et inflammatoires

Les techniques de dosage enzymatiques colorimétriques ont été employées pour le dosage des paramètres suivants : Glycémie, créatinine, urée, bilirubine, transaminases (GOT et GPT), et la phosphatase alcaline (PLA).

Le dosage de la CRP dans le sérum est réalisé par la méthode d'immunturbidimétrie sur l'analyseur automatique Sélectera XE. Protéine C- réactif (CRP).

La concentration des plaquettes et des leucocytes sanguins ont été obtenus à partir de la formule de numération sanguine et réalisée sur automate d'hématologie.

Les détails pratiques, ainsi que les normes relatives à chaque paramètre sont résumés en annexe (**Annexe 5**).

II.2.3. Expression statistique des résultats

Tous les résultats de comparaison entre les deux groupes sont exprimés en moyenne \pm erreur standard et la comparaison entre les différentes moyennes sont effectuées par le test ANOVA I en utilisant le logiciel Prism.5.

La signification statistique entre les deux groupes COM et SCOM est exprimée par un astérisque (*). Le degré de la signification statistique est en fonction de la valeur de la probabilité P, il est :

- Significatif (* ou #) si $p \leq 0,05$
- Moyennement significatif (** ou ##) si $p \leq 0,01$
- Hautement significatif (***) ou ###) si $p \leq 0,001$

***R**ésultats et discussion*

III.1. Description des groupes étudiés selon les caractéristiques démographiques

III.1.1. Répartition selon l'âge

La tranche d'âge 57-76 ans était la plus représentée soit 42,8% des cas l'âge moyen était de 65,36 proche à celui rapporté par Yang et al qui était de 63,7 ans. Zhou et al retrouvait 66 ans (Zhou et al,2020). Les résultats obtenus montrent une différence significative entre la moyenne de groupe SCOM et COM, l'interprétation logique de cette différence pourrait être liée à l'apparition de comorbidité qui est souvent influencée par l'âge ; la majorité des perturbations métaboliques et /ou inflammatoires apparait en avant dans l'âge et avec le vieillissement (Figure 11 et 12).

Nous pouvons affirmer que l'âge avancé supérieur à 60 ans augmente le risque des dysfonctions. Ce résultat est superposable à l'âge moyen des décédés dans la série de Yang et al qui était 64 ans. L'analyse multi variée dans l'étude de Zhou et al a montré un lien statistique entre la survenu de décès et l'âge plus avancé (Huo,2020)

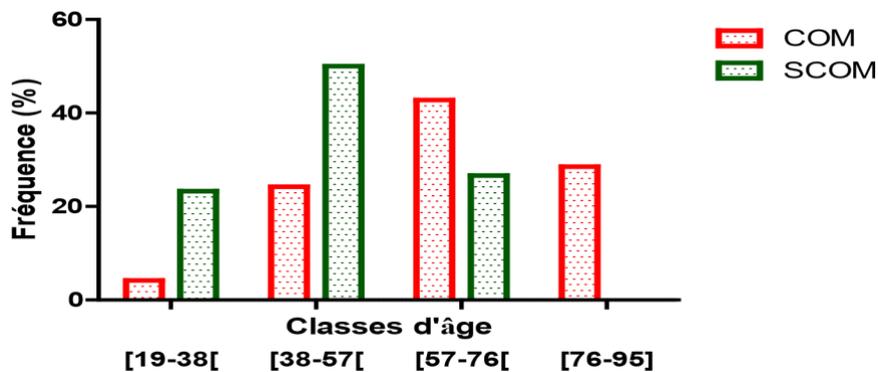


Figure 11. Répartition globale selon les classes d'âge

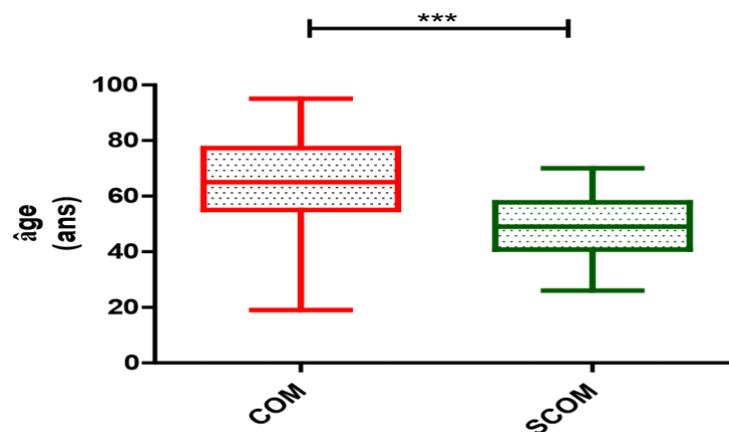


Figure 12. Comparaison entre la moyenne d'âge des groupes

III.1.2. Répartition selon le genre

Chez le groupe COM, Il existe une prédominance des hommes par rapport aux femmes tout le long de la période d'étude, le sexe masculin avec 44% cas positif (RT-PCR positif) alors que les femmes représentent 56%. En revanche, un sexe ratio de 1 est retrouvé chez le groupe SCOM, qui signifie une équivalence entre les fréquences des hommes et des femmes (Figure 13).

La répartition des femmes et des hommes atteints de la covid-19 selon les classes d'âge révèle une légère dominance des femmes, dans toutes tranches d'âge, par rapport aux hommes (Figure 14). Cependant, les raisons de cette différence ne sont pas claires, mais il suppose qu'il y a une relation modulatrice entre les hormones et l'immunité. Certaines études proposent que les hormones chez les femmes en activité génitale aident à réduire leur vulnérabilité aux infections virales (Tunisie-coronavirus WEB). Ceci est, d'une part, en faveur de la fréquence faible enregistrée chez les femmes du groupe SCOM comparant aux hommes, et d'autre part, il pourrait expliquer l'optimum d'atteinte COVID19 retrouvés chez les femmes de tranche d'âge de 57 à 76 et qui ne sont plus en activité génitale.

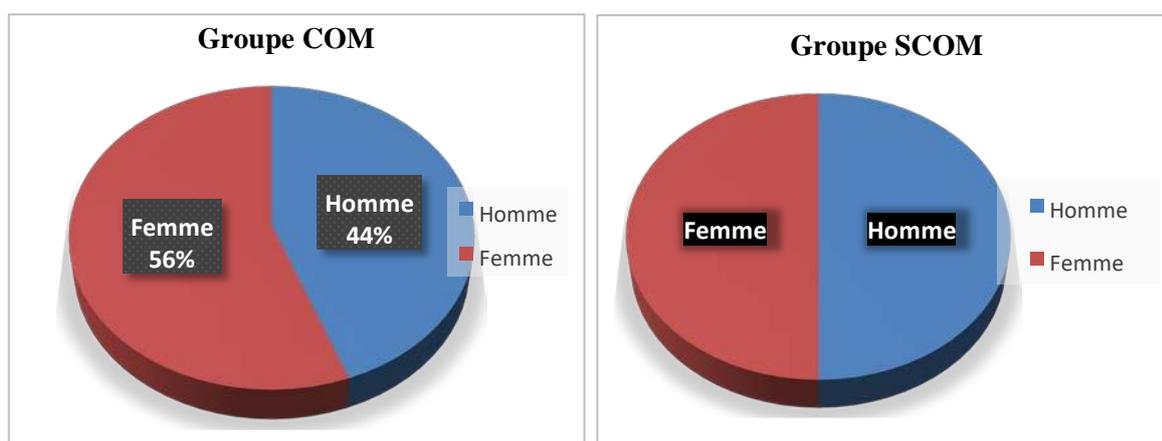


Figure 13. Répartition globale selon le genre

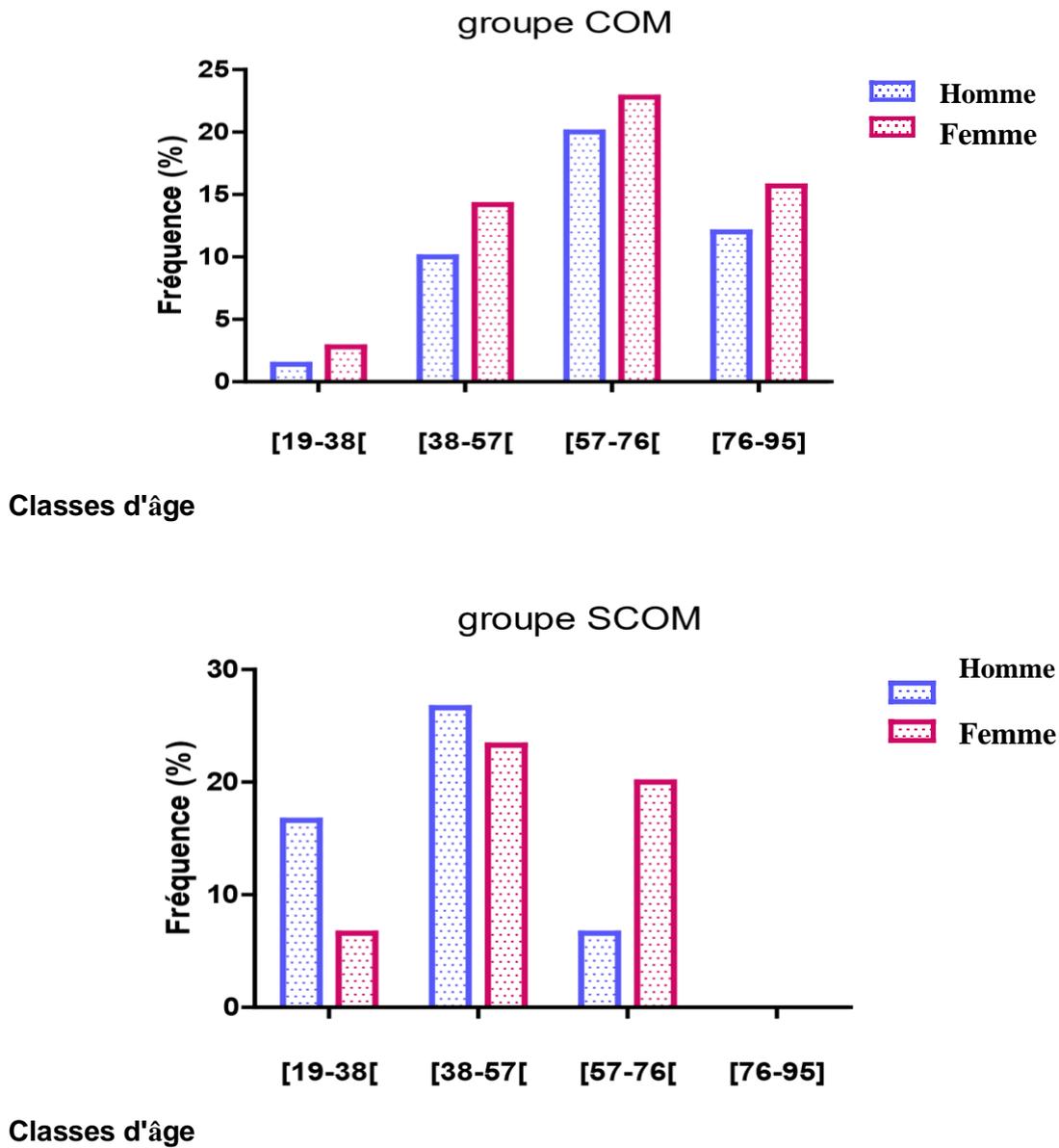


Figure 14. Répartition des deux genres selon les classes d'âge

On reconnaît de plus en plus que les gènes, en particulier ceux qui régulent la réponse immunitaire de l'hôte, peuvent conférer une sensibilité différentielle et influencer la gravité et le pronostic de l'infection par le SRAS-CoV-2. Plusieurs études de prédiction in-silico et moléculaire indiquent un rôle important de divers gènes codant l'ACE2, l'HLA, les cytokines et composants du complément dans la COVID-19.

Beaucoup de ces gènes présentent des variations géographiques propre à chaque population et confèrent ainsi une sensibilité et / ou une résistance à diverses maladies virales.

Influence du gène de l'enzyme 2 de conversion de l'angiotensine (ACE2) :

Il est maintenant admis que le SRAS-CoV-2 utilise l'ACE2 comme récepteur pour l'entrée dans la cellule hôte. La fixation du SARS-CoV-2 sur l'ACE2 active une sérine protéase transmembranaire-2 (TMPRSS2), également fortement exprimée dans les poumons, et contribuant à la propagation du SARS-CoV-2. Des études de séquençage d'ARN unicellulaire ont également confirmé l'expression d'ACE2 et de TMPRSS2 dans un large éventail de types de cellules, notamment les kératinocytes œsophagiens, les tubules rénaux proximaux, les cellules β pancréatiques et les cellules épithéliales gastro-intestinales. C'est par la fusion de son enveloppe avec la membrane cellulaire que le virus pénètre dans les cellules cibles. L'activité du virus sur un organe donné dépendrait de l'existence et du nombre des récepteurs ACE2 sur ses cellules.

Le gène ACE2 est situé sur le **chromosome X en Xp22** et les variants fonctionnels potentiels de ce gène modifient son activité transcriptionnelle. Des études scientifiques ont montré un lien étroit entre le polymorphisme du gène de l'ACE1 et le développement du COVID-19. Certains polymorphismes nucléotidiques (SNP) situés dans les régions codantes du gène ACE2 présentent des fréquences alléliques variables selon la population considérée. (Cao *et al*,2020) Les SNP, comme la **rs758278442** et **rs759134032** considérés comme protecteurs, montrent une fréquence relativement plus élevée d'allèles mutants dans les populations asiatiques par rapport à la moyenne mondiale. En revanche, la fréquence des allèles du SNP **rs763395248**, de vulnérabilité, est relativement plus élevée dans la population européenne par rapport à une moyenne mondiale (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). Une étude de modélisation structurelle a prédit que certaines variantes de l'ACE2 pourraient offrir une résistance potentielle à l'infection par le SRAS-CoV-2. (Hussain *et al*,2020)

On décrit quatre mutations faux-sens (**K26R**, **1468V**, **N720D** et **N638S**) du gène ACE2 dans diverses populations. Parmi ceux-ci, **K26R** a muté plus fréquemment chez les Caucasiens tandis que **1468V** a muté plus fréquemment chez les Asiatiques. De plus, les auteurs ont signalé une expression variable du gène ACE2 parmi diverses populations, mais l'amplitude des différences semble faible. (Li Q,2020) Par ailleurs, l'hypertension et le diabète sucré (DM) sont les comorbidités les plus fréquentes dans COVID-19 ; et qui sont modulées par ACE2. (Patel *et al*,2012) Ceci conforte l'hypothèse que la gravité accrue du COVID-19 chez les personnes souffrant d'hypertension et de DM pourrait être due au moins en partie à des altérations pathologiques de la voie ACE2. De plus, il est maintenant bien documenté que l'ACE2 joue un rôle clé dans le processus inflammatoire (Gaddam,2014), l'hyper-expression des cytokines et

l'induction d'une inflammation vasculaire dans le modèle de souris. (Thomas *et al*,2010). L'ACE2 pourrait aussi moduler le profil des marqueurs des cellules T, des cellules B, des cellules NK et de la réponse à l'interféron dans divers tissus humains. (Li M-Y,2020) Ces données suggèrent qu'au-delà du fait que l'ACE2 soit un récepteur du SRAS-CoV-2, il est également impliqué dans la médiation des processus immunitaire en post-infection, y compris la réaction inflammatoire.

III.1.3. Réparation selon la comorbidité

Dans notre étude, les patients atteints de la COVID 19 présentent majoritairement comme comorbidité les pathologies cardiaques et hémodynamiques, cette catégorie représente 44.8% suivie de diabète type I (22.8%) et diabète type II (14.28%), et donc ces pathologies sont estimées dans cette étude comme majoritaires. Le reste des pathologies ont noté une fréquence plus faible et variables, et donc sont estimées comme minoritaires (**Figure 15**).

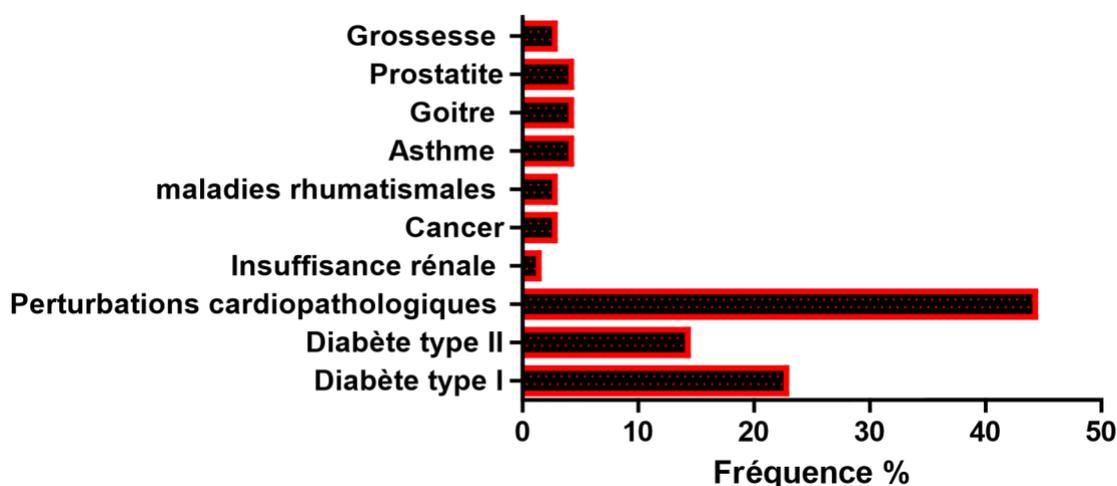


Figure 15. Répartition globale selon la comorbidité

III.2. Perturbations des paramètres métaboliques au cours de la COVID-19

III.2.1. Évolution de la glycémie

Dans cette étude, une élévation significative de la glycémie a été noté pour le groupe COM, avec une moyenne de $2,23 \pm 0,15$ par rapport à une moyenne incluse dans la norme pour le groupe SCOM ($0,8270 \pm 0,018$) (P value $<0,0001$) (**Figure 16**). Chez le groupe COM, l'hyperglycémie est rencontrée chez l'ensemble des patients à une fréquence de 100% pour les

malades ayant une insuffisance rénale, goitre, maladies rhumatoïdes et les femmes enceintes. Cette fréquence reste relative et non représentative car le nombre des patients atteints de ces comorbidités dans la cohorte étudiée, reste très faible par rapport aux trois pathologies majoritaires les cardiopathies, diabète type I et diabète type II. Ces derniers ont respectivement des fréquences d'hyperglycémie de 62%, 61.5% et 38.5%. Toutefois, aucun patients du groupe SCOM n'a montré une hyperglycémie (**Tableau I**).

En effet, le diabète est l'une des comorbidités les plus importantes liées à la gravité de l'infection par le SARS-CoV-2, cette constatation a été démontrée par plusieurs travaux. Les premières données qui ont émergé de Wuhan, en Chine, mettaient en évidence une prévalence du diabète de 12 à 22 % chez les patients hospitalisés pour la COVID-19. Cette association entre diabète et formes graves de la COVID-19 a été confirmée dans un premier temps au niveau national en Chine, puis confortée par les données des Centers for Disease Control and Prevention (**CDC**) aux États-Unis montrant une prévalence du diabète de 6 %, 24 %, et 32 % chez les personnes COVID-19 positives, respectivement non hospitalisées, hospitalisées sans soins intensifs et hospitalisées avec soins intensifs (**CORONADO investigators, et al,2020**).

L'hyperglycémie a été retrouvée chez 45 % et 52 % des patients dans les études de Wu et al. Et Chen et al., respectivement (**Wu Z,2020**). Elle peut être expliquée par l'hypersécrétion de glucocorticoïdes endogènes secondaire dans le contexte de stress induit par l'infection ou par l'utilisation de corticoïdes à visée thérapeutique. Ilias et al. Ont suggéré que le SARS-CoV-2 pourrait avoir une action directe dans le dérèglement glycémique comme le SARS-CoV-1 ou le MERS-CoV, qui, respectivement, provoquait une défaillance des îlots de Langerhans et activait la dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) (**Huo,2020**).

De récentes études ont montré que la protéine ACE2, qui sert de porte d'entrée cellulaire au SARS-CoV-2, est exprimée par les cellules bêta humaines adultes (ainsi que par les cellules alpha qui sécrètent l'hormone glucagon qui, à l'inverse de l'insuline, augmente le taux de glucose dans le sang).

Une étude parue en juillet 2021 dans la revue *Cell Stem Cell* a montré que l'infection par le SARS-CoV-2 des cellules endocrines (sécrétrices d'hormones) du tissu pancréatique s'accompagne de la production accrue de chimiokines

Cette étude a utilisé des cellules endocrines pancréatiques générées à partir de cellules souches pluripotentes humaines (**hPSC**). Elle a montré après infection par le SARS-CoV-2 une

production robuste des chimiokines **CCL2**, **CXCL5** et **CXCL6** ainsi que des marqueurs de l'apoptose (mort cellulaire). Les chercheurs ont également montré que le SARS-CoV-2 infecte in vitro les cellules composant des organoïdes de pancréas (organes miniatures obtenus à partir de **hPSC**, mais dépourvus de cellules immunitaires) préalablement transplantés à des souris humanisées.

Les molécules **HLA** sont un composant de régulation immunitaire, codées par les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (**CMH**). Les gènes des molécules **HLA** sont candidats pour conférer une sensibilité ou une protection vis-à-vis des maladies infectieuses. Le polymorphisme génétique extrême au niveau des gènes **HLA** explique les variations individuelles de la réponse immunitaire contre le SRAS-CoV-2.

Une étude in silico sur la variabilité génétique entre les gènes **HLA de classe I** a suggéré que les gènes **HLA-A**, **-B** et **-C** pourraient affecter la sensibilité et la gravité de l'infection par le SRAS-CoV-2. (**Xiong P et al,2008**).

Cette étude a observé que l'allèle **HLAB * 27 : 01** pouvait augmenter la sensibilité au COVID-19, car cet allèle avait le moins de peptides de liaison prévus pour SARSCoV-2. Et en sait que l'haplotype **HLAB * 27** et en étroite association avec le diabète type 1.

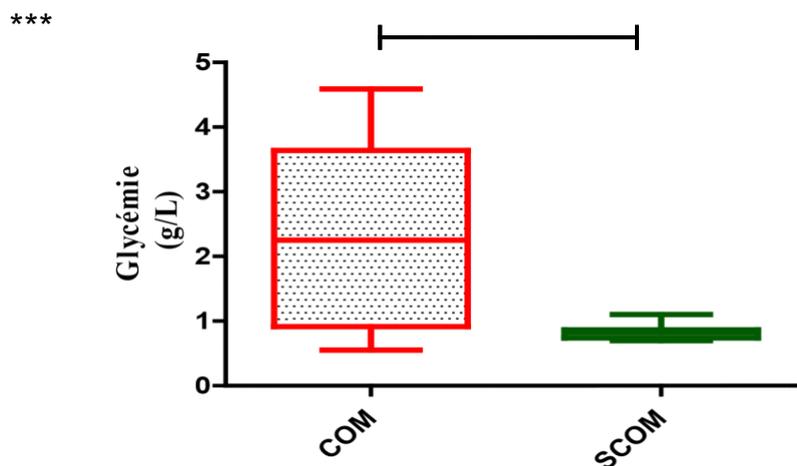


Figure 16. Comparaison du taux de la glycémie entre les deux groupes COM et SCOM
Tableau I. Perturbation de la glycémie en fonction des comorbidités

Élévation de la glycémie N°44(62,8%)	diabète type I	diabète type II	insuffisance cardiaque	Insuffisance rénale	Cancer
---	----------------	-----------------	------------------------	---------------------	--------

Groupe COM	N 24 (61,5%) 3	N°15 (38,5%))	N°31 (62%))	N°1 (100%))	00	N°2 (100%))
Groupe SCOM	00	00	00	00	00	00

Le résultat dans chaque cellule est en forme de n(effectif %) relativement pour les deux groupes COM et SCOM

III.2.2. Évolution du bilan rénal

L’analyse de la perturbation du bilan rénal démontre une perturbation exprimée par une augmentation significative de l’urée (moyenne de 0,4749 ±0,028 dans le groupe COM *versus* à une moyenne de 0,2583 ± 0,00 dans le groupe SCOM, avec une P value <0,0001). Nous avons observé également une augmentation significative de la créatine chez le groupe COM (avec une moyenne de 15,91 ±1,00 par rapport à une moyenne de 8,805 ± 0,24 dans le groupe SCOM, avec une P value <0,0001) (**Figure 17**). En écartant les comorbidités minoritaires, le diabète type I a été la comorbidité qui a montré plus de perturbation rénales (une fréquence de 58.9% pour l’élévation de la créatinine et de l’urée), suivie des cardiopathies et du diabète type II. En revanche aucune perturbation du bilan rénale n’a été signalée pour les patients du groupe SCOM (**Tableau II et III**).

Dès les premiers mois de la pandémie, plusieurs études ont rapporté une atteinte rénale extrêmement fréquente chez les patients atteints de COVID-19. Cette atteinte peut se présenter sous forme d’une insuffisance rénale aigue (5-35% des patients), d’une hématurie (30-40%) et/ou d’une protéinurie (40-65%). En réanimation, les premières études en provenance de Chine estimaient la prévalence de l’insuffisance rénale à 23 % en moyenne (14-35 %) (**Chen X et al,2020**).

Les études les plus récentes, principalement réalisées en Europe ou aux États-Unis, retrouvent une prévalence de l’insuffisance rénale plus élevée, souvent au-delà de 50 %. Ces différences d’incidence observées entre la Chine et les pays occidentaux pourraient en partie s’expliquer par des facteurs génétiques (**Wong,2015**).

L’atteinte rénale est un critère de gravité. L’analyse par PCR d’organes de patients décédés de la COVID-19 a révélé que les reins sont parmi les organes-cibles les plus fréquemment touchés par le virus, après les poumons. La fréquence élevée de l’atteinte rénale est expliquée par la présence du récepteur viral ACE2 (*angiotensin converting enzyme 2*) et de ses corécepteurs à la surface de cellules rénales. Le virus est ainsi susceptible d’affecter plusieurs compartiments du rein, dont les glomérules, l’endothélium et le tubule proximal Un

certain nombre de facteurs de risque ont été identifiés, tels que l'âge, les comorbidités (hypertension artérielle, diabète, surpoids. Insuffisance rénale chronique).

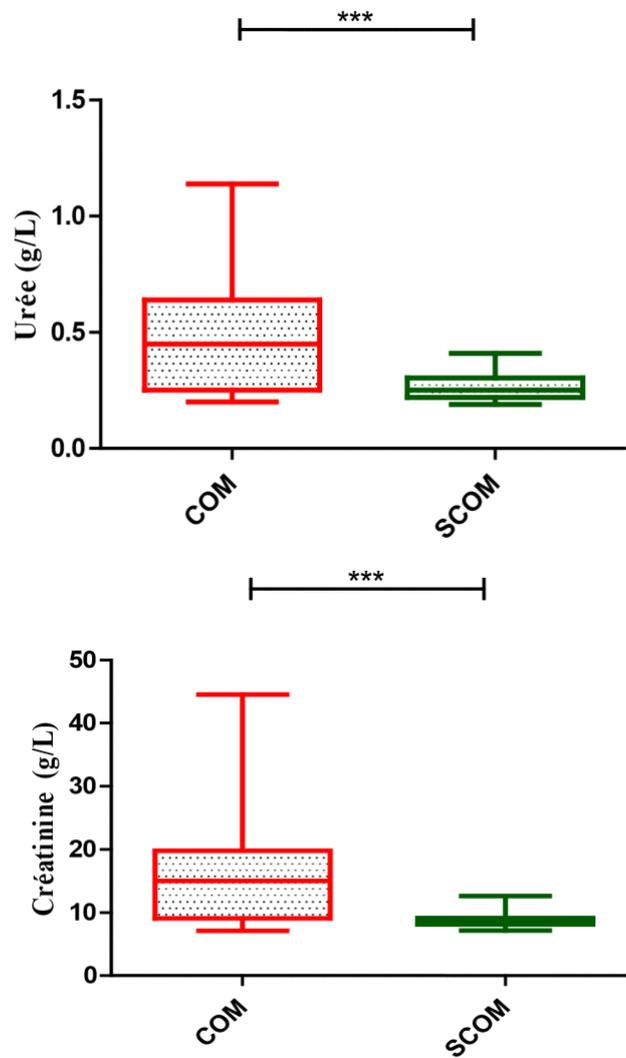


Figure 17. Comparaison des paramètres du bilan rénal entre les deux groupes COM et SCOM

Tableau II. Perturbation de l'urée en fonction des comorbidités

<p>Élévation de l'urée N°37 (52,8%)</p>	<p>type I</p>	<p>type II</p>	<p>pat urb atio ns di</p> <p>pat hologiq ues</p>	<p>un sar cén ce ale</p>	<p>Can cer</p>
---	---------------	----------------	--	--	--------------------

Groupe COM	N°23 (58,9%)	N°15 (38,5%)	N°26 (52%)	N°1 (100%)	00
Groupe SCOM	00	00	00	00	00

Tableau III. Perturbation de la créatinine en fonction des comorbidités

Élévation de la créatinine N°37 (52,8%)	type I	type II	patologie cardiovasculaire	diabète	Cancer
Groupe COM	N23 (58,9%)	N°15 (38,5%)	N°26 (52%)	N°1 (100%)	00
Groupe SCOM	00	00	00	00	00

III.2.2. Évolution du bilan hépatique

Les résultats du bilan hépatique ne montrent pas une perturbation importante et significatives chez les COM et SCOM, à l’exception de quelques variations (**Figure 18 et tableau IV, V**) :

- Une augmentation des GOT avec une moyenne de $28,77 \pm 0,9002$ dans le groupe COM par rapport à une moyenne de $27,45 \pm 1,206$ dans le groupe SCOM avec une P value =0,4389 donc cette différence est statistiquement significative.
- une augmentation des GPT avec une moyenne de $31,19 \pm 0,09229$ dans le groupe COM par rapport à une moyenne de $30,22 \pm 1,199$ dans le groupe SCOM avec une P value =0,3369 donc cette différence est statistiquement significative.
- une augmentation de bilirubine avec une moyenne de $5,143 \pm 0,2916$ dans le groupe COM par rapport à une moyenne de $4,733 \pm 0,3214$ dans le groupe SCOM avec une P value =0,3369 donc cette différence est statistiquement significative.

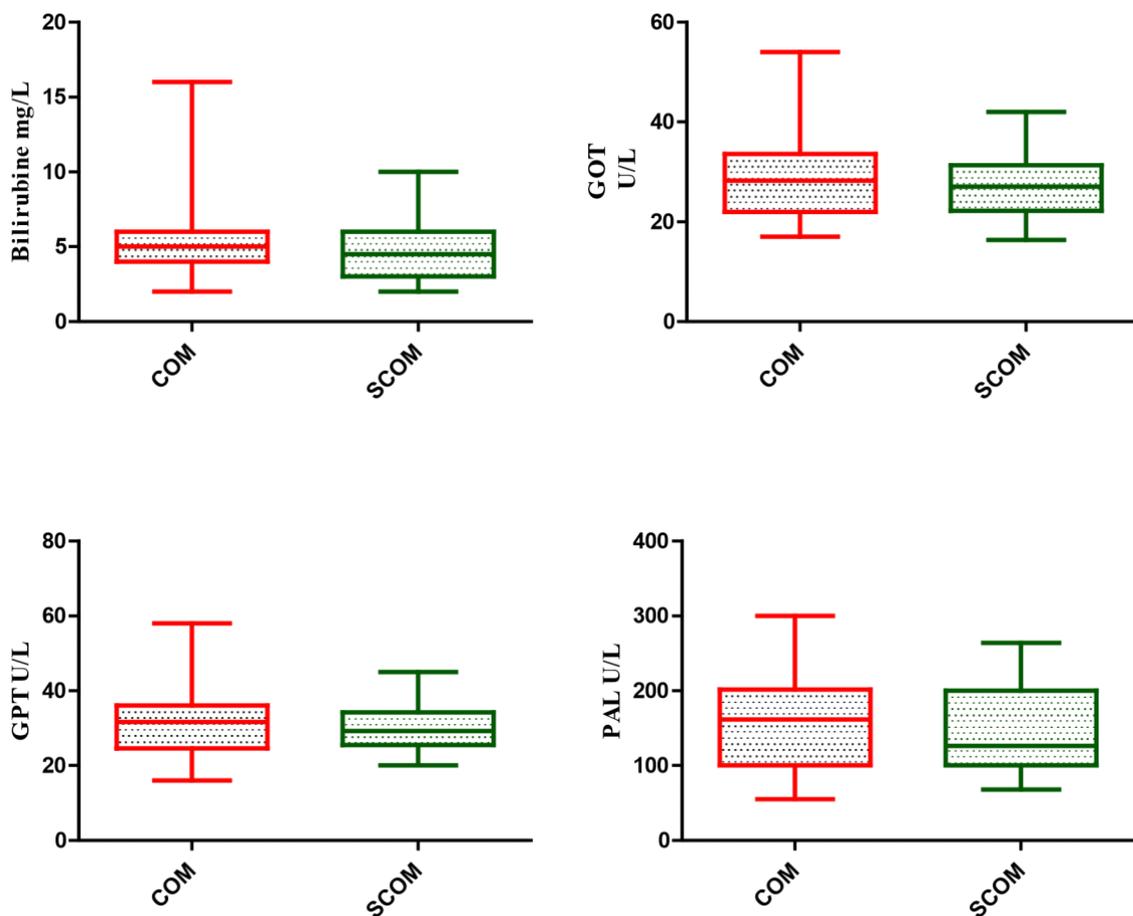


Figure 18. Comparaison des paramètres du bilan hépatique entre les deux groupes COM et SCOM

Tableau IV. Perturbation des transaminases en fonction des comorbidités

Élévation des transaminases N°1 (1,42%)	type I	type II	patologies cardiovasculaires	un saignée	Ca ce
Groupe COM	N°1 (2,56%)	00	N°1 (2%)	00	00
Groupe SCOM	00	00	00	00	00

Tableau V. Perturbation de la bilirubine en fonction des comorbidités

Élévation de la bilirubine N°2 (2,85%)	type I	type II	patologie hépatique	insuffisance rénale	Cancer
Groupe COM	N°1 (2,56%)	00	00	00	N°1 (50%)
Groupe SCOM	00	00	00	00	00

Cependant, quelques études rapportent des altérations hépatiques fonctionnelles. Une étude en provenance des États-Unis estimait parmi les 281 patients inclus, 36,3% présentaient des perturbations du bilan hépatique. Une élévation du taux des bilirubines était l'anomalie la plus fréquente (25,3%) suivie par une élévation des taux d'ASAT (24,3%) puis d'ALAT (12,8%). Dans cette cohorte de patients hospitalisés pour une infection par le COVID-19, les perturbations du bilan hépatique étaient le plus souvent modérées et transitoires. Elles sont associées à un profil de maladie plus sévère et pourraient représenter un biomarqueur permettant une détection précoce des patients à risque d'infection grave (Smith,2021).

En effet, les cellules du foie et du canal biliaire ont la protéine ACE2 à leur surface. Cette protéine sert de récepteur au SRAS-CoV-2 et aide le virus à entrer dans les cellules. La question de savoir si ce virus infecte directement ou indirectement le foie n'a pas encore de réponse claire. Jusqu'à présent, aucun rapport n'est paru dans les revues examinées par des pairs où il est question de grands nombres de personnes atteintes de l'hépatite virale B ou C qui ont également contracté la COVID-19. Il n'empêche que certains médecins craignent que le foie des personnes atteintes d'une hépatite virale chronique puisse subir des lésions additionnelles si elles éprouvent des symptômes graves de la COVID-19 (Wong,2015) (Smith,2021).

III.3. Perturbations hémodynamiques au cours de la COVID-19

La perturbation des facteurs hémodynamiques a été présente seulement chez le groupe COM. Une baisse significative des taux des TP avec une moyenne de $76,87 \pm 1,918$ dans le groupe COM par rapport à une moyenne de $94,77 \pm 0,9440$ dans le groupe SCOM. Par conséquent, une augmentation de l'INR avec une moyenne de $1,627 \pm 0,1749$ versus $1,091 \pm 0,01$ pour le groupe SCOM (Figure 19). Cette perturbation a été rencontrée avec les comorbidités

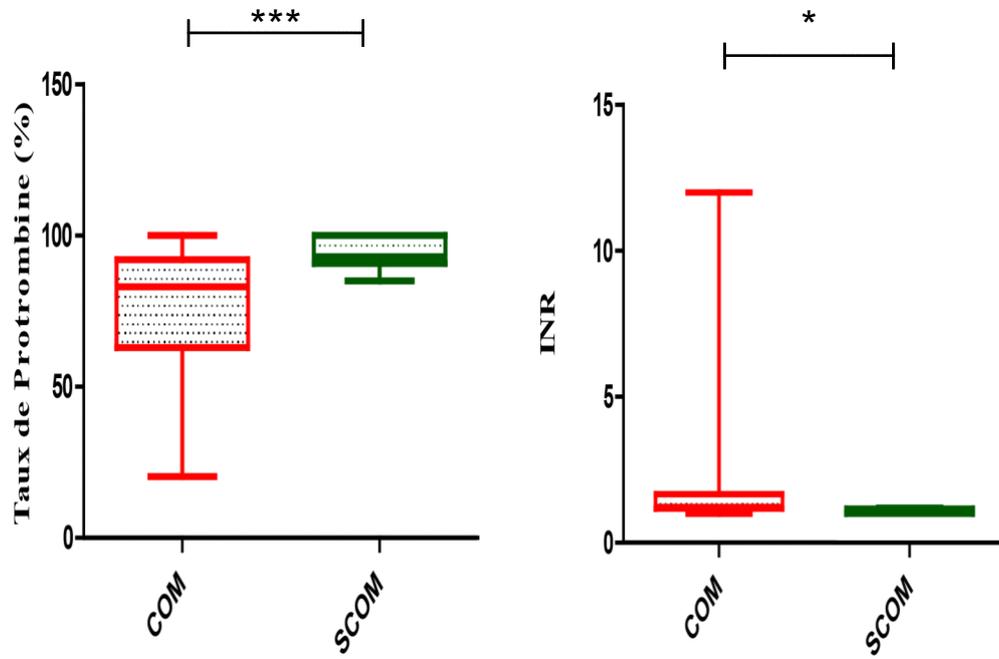
majeures, et une prédominante chez les patients avec comorbidité cardiopathie (48%) (**Tableau VII**).

Le taux des plaquettes exhibe aussi une diminution significative des plaquettes avec une moyenne de $197,1 \pm 8,488$ dans le groupe COM par rapport à une moyenne de $237,5 \pm 12,29$ dans le groupe SCOM (**Figure 19**). Toutes ces perturbations ont touché essentiellement les malades ayant des cardiopathies (48% et 24 % respectivement aux perturbations TP/INR et les plaquettes) (**Tableaux VI et VII**).

Les perturbations de la coagulation sont fréquemment observées chez les patients atteints de COVID-19 ainsi que les événements cliniques thrombotiques. Ces évènements augmentent le risque de décès au cours de la maladie. Ainsi, les résultats obtenus corroborent ceux retrouvés dans d'autres nations. Dans une cohorte prospective multicentrique française portant sur 150 patients en réanimation, ils ont constaté 18 % d'évènements thromboemboliques (**Nicosia ,2021**). Une méta-analyse d'études asiatiques décrivait un compte plaquettaire abaissé à l'admission chez les patients les plus sévères (**Chaibi,2021**).

La coagulopathie de la COVID-19 peut être due aux interactions entre l'activation de la coagulation et l'inflammation lors du sepsis. Il s'agit du concept de thromboinflammation, L'un des principaux facteurs déclenchants est la sécrétion de cytokines pro inflammatoires (TNF- α , IL-1 et IL-6). Il en résulte une activation de la coagulation, principalement du fait de la libération de facteur tissulaire par les cellules mononuclées (favorisant la génération de thrombine), ainsi que de l'activation des plaquettes et de leur interaction avec l'endothélium activé (**Walls,2020**).

Le SRAS-CoV-2 peut également entraîner des lésions multi-organes via la stimulation des cascades de coagulation (**Pretorius, E,2021**) et la thromboinflammation associée, la dérégulation du système rénine-angiotensine-aldostérone et les lésions des cellules endothéliales (**Groble, C et al,2020**) (**Gupta, A et al,2020**). Les lésions endothéliales à médiation infectieuse et l'endothélialite (marquées par la présence de macrophages et de neutrophiles activés) peuvent déclencher une production excessive de thrombine, inhiber la fibrinolyse et activer les voies du complément d'une manière qui entraîne un dysfonctionnement microvasculaire et un dépôt de microthrombi.



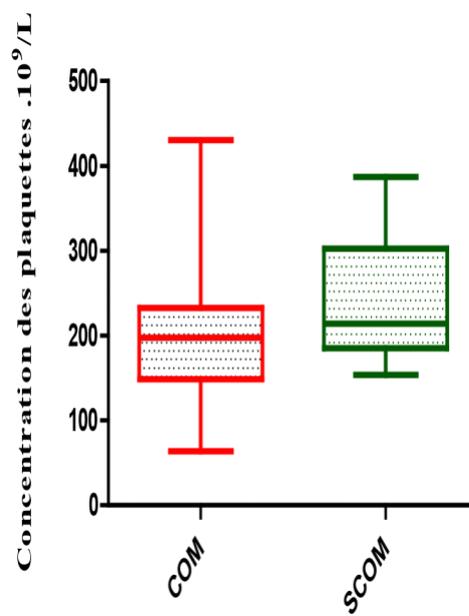


Figure 19. Comparaison des paramètres hémodynamiques entre les deux groupes COM et SCOM

Tableau VI. Perturbation du TP/INR en fonction des comorbidités

Élévation du TP/INR N°26 (37,1%)	type I	type II	patologie cardiovasculaire	insuffisance rénale	Cancer
Groupe COM	N°8 (20,5%)	N°5 (12,8%)	N°24 (48%)	00	N°1 (50%)
Groupe SCOM	00	00	00	00	00

Figure VII. Comparaison du taux des plaquettes entre les deux groupes COM et SCOM

Élévation des plaquettes N°14 (20%)	type I	type II	patologie cardiovasculaire	insuffisance rénale	Cancer
Groupe COM	N°6 (15,4%)	N°2 (5,12%)	N°12 (24%)	00	00
Groupe SCOM	00	00	00	00	00

III.4. Perturbations inflammatoires au cours de la COVID-19

Une perturbation significative du bilan inflammatoire a été révélée uniquement chez les patients COM. Une augmentation significative des taux de la CRP avec une moyenne de 6,143 ±0,74 dans le groupe COM par rapport à une moyenne de 4,86 ± 0,55 dans le groupe SCOM (Figure 20). L'augmentation de la CRP est à une fréquence importante chez les malades présentant une maladie rhumatismale (50%), suivi de la maladie asthmatique (33.33%) et cardiopathies (12%) (Tableau VIII).

En effet, la CRP, protéine de phase aiguë non spécifique induite par l'Interleukine-6 (IL-6) au niveau hépatique est un biomarqueur sensible de l'inflammation, notamment de

l'infection. L'étude de Liu et al. a exploré la relation entre la CRP et la Covid-19 et a observé que les patients ayant une CRP élevée (> 41,8 mg/L) étaient plus susceptibles de développer une forme grave de l'infection par le SARS-CoV-2 (Chen,2020) .

Lors de la Covid-19, et en particulier en cas de pneumonie, il existe un **syndrome inflammatoire important** avec VS et CRP élevées, associées à une **augmentation du fibrinogène et de la ferritine**. Ces paramètres peuvent être très élevés lors du fameux virage inflammatoire de la maladie avec le relargage cytokinique (« orage cytokinique ») qui peut survenir quand la maladie infectieuse se transforme en maladie inflammatoire. Les polymorphismes du gène des cytokines confèrent un risque ou une protection au COVID-19. Plusieurs études ont montré des associations entre les polymorphismes du gène des cytokines, tels que l'allèle IFN- γ + 874A, IL12RB1, et le SRAS-CoV-2. L'expression des cytokines dépend de divers régulateurs en amont, tels que le TLR et peut également interagir potentiellement avec d'autres composants de l'immunité innée, tels que les composants du complément.

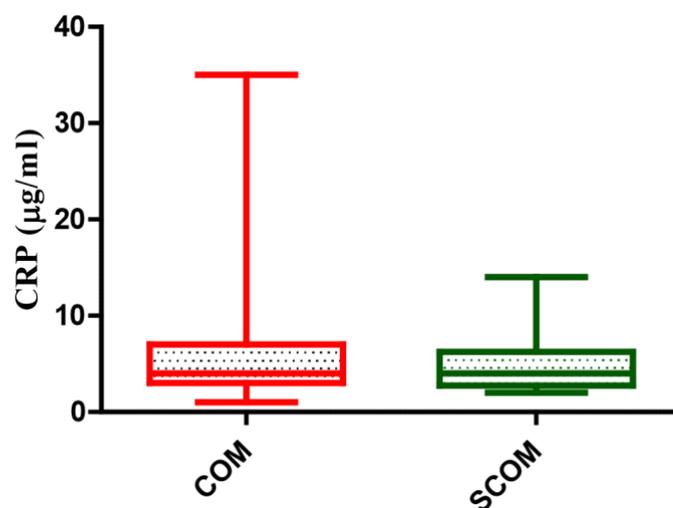


Figure 20. Comparaison du taux de la CRP entre les deux groupes COM et SCOM

Tableau VIII. Perturbation du CRP en fonction des comorbidités

Élévation de la CRP N°8 (11,4%)	type I	type II	patologie cardiovasculaire	immunité	Cancer
Groupe COM	N°3 (7,7%)	N°3 (7,7%)	N°6 (12%)	00	00
Groupe SCOM	00	00	00	00	00

L'énumération des leucocytes a révélé une leucocytose significative chez le groupe COM (10,28±9.46) par rapport au groupe SCOM (8,35±0.55), cette perturbation a été enregistrée chez l'ensemble des comorbidités, majeures et mineures (**Figure 21 et tableau IX**).

Lors d'une infection virale, l'hôte produit des protéines nommées interférons de type I (IFN) pour se défendre. Les patients infectés par le COVID-19 qui ne parviennent pas à mettre rapidement en place cette première défense évoluent vers une forme sévère de la maladie, avec des complications pulmonaires. Paradoxalement, chez ces patients, on constate alors une réponse IFN tardive qui conduit à une hyper-inflammation destructrice. Publiés dans la prestigieuse revue *Nature*, les travaux du Prof. Michel Gilliet, chef du Service de dermatologie du CHUV, et de la Prof. Andrea Ablasser, cheffe du laboratoire Immunité innée de l'EPFL apportent un nouvel éclairage sur ce paradoxe et ouvrent des perspectives thérapeutiques (120) (**Gando,2016**).

Les équipes ont découvert que la réponse IFN tardive conduisant à l'hyper inflammation n'est pas déclenchée par le virus lui-même, mais par les dommages tissulaires qu'il induit, à travers des molécules de signalisation appelées cGAS-STING. cGAS détecte l'ADN – largué par les cellules mourantes – qui pénètre à l'intérieur des cellules et déclenche alors, à travers la molécule STING, la réponse IFN, conduisant à l'hyper-inflammation : un « orage de cytokines » qui finit par générer davantage de destruction de tissus sains. Il s'agit là d'une réaction identique à celle se produisant lors de blessures et dans le contexte de certaines maladies auto-immunes. Cette même équipe de recherche l'avait d'ailleurs déjà identifiée lors de travaux sur la cicatrisation cutanée et le psoriasis (**Liu,2020**).

Les dosages d'interleukine-6 sont alors à des valeurs très élevées mais, paradoxalement, pas aussi élevés que lors des syndromes de détresse respiratoire liés à d'autres causes. Les globules blancs de type polynucléaires neutrophiles peuvent s'élever (« hyperleucocytose »), particulièrement lors de ce virage inflammatoire, alors qu'il existe souvent une baisse des globules blancs de type lymphocytes (« lymphopénie »). Parallèlement, il existe un état d'hypercoagulabilité franc, avec hyperactivité des plaquettes avec un risque majeur de thrombose et ce risque semble être évalué par la mesure des D-dimères dans le sang. Des anticorps anti-phospholipides (théoriquement pro-coagulants) ont été observés comme dans d'autres maladies infectieuses virales.

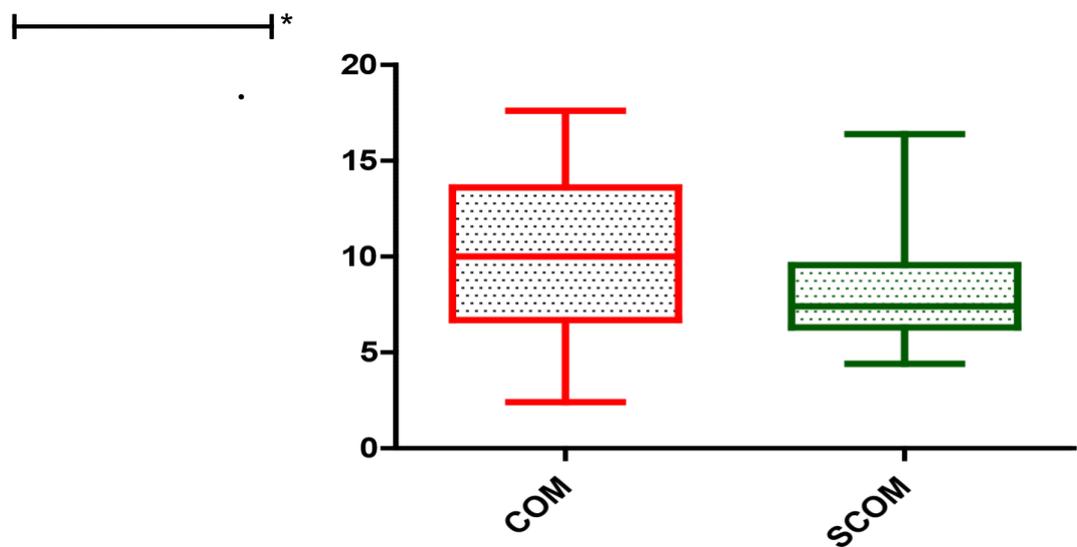


Figure 21. Comparaison du taux des leucocytes sanguins entre les deux groupes COM et SCOM

Tableau IX. Perturbation des leucocytes sanguin en fonction des comorbidités

Élévation des leucocytes sanguins N°35 (50%)	Diabète type I	Diabète type II	Pathologies cardiovasculaires	Insuffisance rénale	Cancer
Groupe COM	N°19 (48,7%)	N°16 (41,02%)	N°13 (26%)	N°1 (100%)	N°1 (50%)
Groupe SCOM	00	00	00	00	00

*C*onclusion et perspectives

Conclusion

La pandémie COVID-19, a balayé les pays et les continents, en provoquant des bouleversements sociaux, des dommages économiques et des souffrances humaines inimaginables. L'infection à SARS-CoV-2 constitue un problème de santé publique à l'échelle mondiale. Malgré des mesures prises, la pandémie semble ne pas être sous contrôle et demeure problématique aussi bien sur le plan sanitaire que sur le plan économique. Depuis le début de la pandémie,

Le but de ce travail est d'étudier la variation de différents paramètres biologiques au cours du COVID-19 tout en essayant de comparer ces changements entre les patients sans comorbidité (nommé dans l'étude groupe SCOM) et les patients présentant des pathologies inflammatoires ou métaboliques (nommé groupe COM).

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective qui a intéressé une population de cent (100) patients qui ont été hospitalisés à l'EPH BOUFARIK avec état critique suite à l'infection par le COVID-19. L'étude a été menée au laboratoire central de l'EPH sur une période de trois mois (Janvier 2022 – Mars 2022).

Le présent travail a démontré les résultats résumés en points suivants :

- Au cours d'une infection COVI-19 les comorbidités fréquentes ont été les cardiopathies, le diabète type I, diabète type II.
- L'hyperglycémie a marqué le dysfonctionnement majoritairement rencontré avec toute comorbidité.
- Une perturbation du bilan rénal est surtout retrouvée chez les patients avec insuffisance rénale.
- Absence de dysfonctionnement hépatique dans la cohorte étudiée
- Une leucocytose et une augmentation des taux de la CRP ont été retrouvée chez l'ensemble des patients du groupe COM, essentiellement chez les malades souffrant des maladies rhumatismales.
- Absence de toutes perturbations inflammatoires ou métaboliques chez les patients atteints de la COVID-19 et qui ne présentent aucune comorbidité signalée.

Il serait intéressant de poursuivre l'étude en augmentant l'effectif étudié et le diversifiant géographiquement afin d'avoir une cohorte plus représentative de la population algérienne.

*D*onnées bibliographiques

Références bibliographiques

A

*Almeida; JD, Berry; DM, Cunningham; CH, Hamre; D, Hofstad; MS, Mallucci; L, et al. Coronaviruses. Nature. 1968;220:1968.

*AFPA Association Française de Pédiatrie Ambulatoire. « Historique des coronavirus responsables d'épidémies graves ». <https://afpa.org/coronavirus/>

*Arndt AL, Larson BJ, Hogue BG. 2010. A conserved domain in the coronavirus membrane protein tail is important for virus assembly. J Virol 84:11418 –11428.

<https://doi.org/10.1128/JVI.01131-10>. 42- Schoeman D, Fielding BC. 2019. Coronavirus envelopeprotein: currentknowledge. Virol J 16:69.

<https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0>.

*A. Gupta, et al., Extrapulmonary manifestations of COVID-19, Nat Med 26 (7) (2020) 1017–1032. 65- D Bestle, MR Heindl, H Limburg, et al., TMPRSS2 and furin are both essential for proteolytic activation of SARS-CoV-2 in human airway cells, Life Sci. Alliance 3 (2020).

*A. Nalbandian, et al., Post-acute COVID- 19 syndrome, Nat Med 27 (4) (2021) 601– 615. 90

*A.E. Gorbalenya, L. Enjuanes, J. Ziebuhr, E.J. Snijder, Nidovirales : evolving the largest RNA virus genome, Virus Res. 117 (2006) 17–37.

B

*Bonny, V., Maillard, A., Mousseaux, C., Plaçais, L., & Richier, Q. (2020). COVID19: Pathogenesis of a multi-faceted disease. La Revue de Médecine Interne. Doi: 10.1016/j.revmed.2020.05.003

*B Coutard, C Valle, X de Lamballerie, et al., The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade, Antiviral Res. 176 (2020) 104742.

*Berger, J. R. (2020). COVID-19 and the nervous system. J. Neurovirol. 26, 143– 148. Doi: 10.1007/s13365-020-00840-5

*Berger, J. R. (2020). COVID-19 and the nervous system. J. Neurovirol. 26, 143–148. doi: 10.1007/s13365-020-00840-5

C

*Cariou B., Hadjadj S., Wargny M., CORONADO investigators, et al. Phenotypic characteristics and prognosis of inpatients with COVID-19 and diabetes : the CORONADO study. *Diabetologia*. 2020 ;63:1500–1515. [Erratum in: *Diabetologia* 2020;63:1953–] [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar]

- *Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China : a descriptive study. *Lancet Lond Engl.* 2020 ;395(10223) :507–513. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar]
- *C.F. Baer, Does mutation rate depend on itself, *PLoS Biol.* 6 (2) (2008) e52, <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060052>.
- *CDC. Interim Clinical Guidance for Management of Patients with Confirmed Coronavirus Disease (COVID-19). Center Disease Control and Prevention 2021.
- *CDC. Interim Clinical Guidance for Management of Patients with Confirmed Coronavirus Disease (COVID-19). Centers for Disease Control and Prevention 2021. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-guidance-managementpatients.html>.
- *Cao Y, Li L, Feng Z, et al. Comparative genetic analysis of the novel coronavirus (2019-nCoV/SARS-CoV-2) receptor ACE2 in different populations. *Cell discovery.* 2020;6:11.
- *Cook, J.K.A., Jackwood, M., and Jones, R.C. (2012). The long view: 40 years of infectious bronchitis research. *AvianPathol.* 41, 239–250.
- *Cui J. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 34. 2021
- *Chang C-K, Sue S-C, Yu T-H, Hsieh C-M, Tsai C-K, Chiang Y-C, Lee SJ, Hsiao HH, Wu W-J, Chang W-L, Lin C-H, Huang T-H. 2006. Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. *J Biomed Sci* 13:59 –72. <https://doi.org/10.1007/s11373-005-9035-9>.
- *Cui L, Wang H, Ji Y, Yang J, Xu S, Huang X, Wang Z, Qin L, Tien P, Zhou X, Guo D, *Chen Y. 2015. The nucleocapsid protein of coronaviruses acts as a viral suppressor of RNA silencing in mammalian cells. *J Virol* 89:9029 –9043. <https://doi.org/10.1128/JVI.01331-15>.
- *Covid-19 : Alpha, Beta, Gamma, Delta, Epsilon... l'émergence sans fin des variants

D

- *Dhama, K., Khan, S., Tiwari, R., Sircar, S., Bhat, S., Malik, Y. S., Rodriguez Morales, A. J. (2020). Coronavirus Disease 2019–COVID-19. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(4). Doi:10.1128/cmr.00028-20
- *Daniloski, Z., Guo, X., and Sanjana, N. E. (2020). The D614G mutation in SARS-CoV-2 spike increases transduction of multiple human cell types. Preprint Server Biol. doi: 10.1101/2020.06.14.151357
-

***Du, L.; He, Y.; Zhou, Y.; Liu, S.; Zheng, B.-J.; Jiang, S.** The spike protein of SARSCoV—a target for vaccine and therapeutic development. *Nat. Rev. Microbiol.* 2009, 7, 226–236.

***DeDiego ML, Alvarez E, Almazán F, Rejas MT, Lamirande E, Roberts A, Shieh WJ, Zaki SR, Subbarao K, Enjuanes L.** 2007. A severe acute respiratory syndrome corona virus that lacks the E gene is attenuated in vitro and in vivo. *J Virol* 81:1701–1713. <https://doi.org/10.1128/JVI.01467-06>.

***Dorjee K, Kim H, Bonomo E, Dolma R.** Prevalence and predictors of death and severe disease in patients hospitalized due to COVID-19: A comprehensive systematic review and meta-analysis of 77 studies and 38,000 patients. *PLOS ONE* 2020;15: e0243191.

***Dorjee K, Kim H, Bonomo E, Dolma R.** Prevalence and predictors of death and severe disease in patients hospitalized due to COVID-19: A comprehensive systematic review and meta-analysis of 77 studies and 38,000 patients. *PLOS ONE* 2020;15:e0243191.

***D. Wang, B. Hu, C. Hu, F. Zhu, X. Liu, J. Zhang, B. Wang, H. Xiang, Z. Cheng, Y. Xiong,** Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China, *JAMA*, 323 (2020) 1061-1069.

E

***E.J. Giamarellos-Bourboulis, et al.,** Complex Immune Dysregulation in COVID19 Patients with Severe Respiratory Failure, *Cell Host Microbe* (2020).

***ECDC.** Clinical characteristics of COVID-19. European Centre for Disease Prevention and Control 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latestevidence/clinical>.
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-guidancemanagementpatients.Html#>.

F

***Fan H, Ooi A, Tan YW, Wang S, Fang S, Liu DX, Lescar J.** 2005. The nucleocapsid protein of coronavirus infectious bronchitis virus: Crystal structure of its N-terminal domain and multimerization properties. *Structure* 13:1859 –1868. <https://doi.org/10.1016/j.str.2005.08.021>

***F Wu, S Zhao, B Yu, et al.,** A new coronavirus associated with human respiratory disease in China, *Nature* 579 (2020) 265–269. 89

G

***Gando S., Levi M., Toh C.-H.** Disseminated intravascular coagulation. *Nat Rev Dis Primer.* 2016 ;2 :16037. [PubMed] [Google Scholar]

* **Gaddam RR, Chambers S, Bhatia M.** ACE and ACE2 in inflammation: a tale of two enzymes. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2014;13:224-234.

- * Grobler, C., Maphumulo, SC, Grobbelaar, LM, Bredenkamp, JC, Laubscher, GJ, Lourens, PJ, et al. (2020). Covid-19 : les montagnes russes de la fibrine(ogène), des d-dimères, du facteur von willebrand, de la p-sélectine et de leurs interactions avec les cellules endothéliales, les plaquettes et les érythrocytes. *Int. J. Mol. Sci.* 21:5168. doi : 10.3390/ijms21145168
- * Gupta, A., Madhavan, MV, Sehgal, K., Nair, N., Mahajan, S., Sehrawat, TS, et al. (2020). Manifestations extrapulmonaires du COVID-19. *Nat. Méd.* 26, 1017-1032. d'antiplasmine. *medRxiv* [préimpression]. Disponible en ligne sur : <https://doi.org/10.1101/2021.05.21.21257578> (consulté le 19 avril 2021).
- *Grant, O.C.; Montgomery, D.; Ito, K.; Woods, R.J. Analysis of the SARSCoV-2 spike protein glycan shield: Implications for immune recognition. *BioRxivPrepr. Serv. Biol.* 2020.
- H**
- *Hamre D, Procknow JJ. A New Virus Isolated from the Human Respiratory Tract. 1966;(30734):190–3.
- *HAL Id: hal-03238987. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-03238987>. Preprint submitted on 27 May 2021.
- *Hussain EW, Diwanji D, Suryamohan K, et al. Structural variations in human ACE2 may influence its binding with SARS-CoV-2 spike protein. *J Med Virol.* 2020. doi:10.1002/jmv.25832
- * H. Harapan, N. Itoh, A. Yufika, W. Winardi, S. Keam, H. Te, D. Megawati, Z. Hayati, A.L. Wagner, M.Mudatsir, Coronavirus disease 2019 (COVID-19): à literature review, *J. Infect. Public Health* 13 (2020) 667–673, <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.03.019>.
- *H Chakraborty, S Bhattacharjya, Mechanistic insights of host cell fusion of SARS–CoV-1 and SARS-CoV-2 from atomic resolution structure and membrane dynamics, *Biophys. Chem.* 265 (2020) 106438
- *H. Su, et al., Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China, *Kidney Int* (2020).
- *Hess, D. C., Eldahshan, W., and Rutkowski, E. (2020). COVID-19-Related Stroke. *Trans. Stroke Res.* 11, 322–325. Doi: 10.1007/s12975-020-00818-9
- * [https://www.thelancet.com/article/S0140-6736\(20\)32137-1/fulltext](https://www.thelancet.com/article/S0140-6736(20)32137-1/fulltext)
- *Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., et al. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet (London England)* 395, 497–506. Doi: 10.1016/s0140-6736(20)30183-5
-

*Hess, D. C., Eldahshan, W., and Rutkowski, E. (2020). COVID-19-

Related Stroke. *Trans. Stroke Res.* 11, 322–325. doi: 10.1007/s12975-020-00818-9

*Haimeï, M. A. (2020). Pathogenesis and Treatment Strategies of COVID19- Related Hypercoagulant and Thrombotic Complications. *Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis Off. J. Int. Acad. Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis* 26:1076029620944497. doi:10.1177/1076029620944497

*Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., et al. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet (London England)* 395, 497–506. doi: 10.1016/s0140-6736(20)30183-5

[*https://www.webdo.tn/2021/05/31/tunisie-coronavirus-les-tests-rapidesdisponibles-en-pharmacie-a-partir-de-ce-lundi/](https://www.webdo.tn/2021/05/31/tunisie-coronavirus-les-tests-rapidesdisponibles-en-pharmacie-a-partir-de-ce-lundi/)

[*https://www.thelancet.com/article/S0140-6736\(20\)32137-1/fulltext](https://www.thelancet.com/article/S0140-6736(20)32137-1/fulltext)

J

*J. Gribble, et al., The Coronavirus Proofreading Exoribonuclease Mediates Extensive Viral Recombination, Preprint at bioRxiv, 2020, <https://doi.org/10.1101/2020.04.23.057786>.

*J.W. Drake, Rates of spontaneous mutation among RNA viruses, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90 (1993) 4171–4175.

K

*Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. 2020. The architecture of SARS-CoV 2 transcriptome. *BioRxiv* 2.

L

*L. Zou, F. Ruan, M. Huang, L. Liang, H. Huang, Z. Hong, J. Yu, M. Kang, Y. Song, J. Xia, SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients, *New England Journal of Medicine*, 382 (2020) 1177-1179.

*Liu F., Li L., Xu M. Prognostic value of interleukin-6, C-reactive protein, and procalcitonin in patients with COVID-19. *J Clin Virol.* 2020 ;127 :104370. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar]

*Li Q, Cao Z, Rahman P. Genetic variability of human angiotensin-converting enzyme 2 (hACE2) among various ethnic populations. *BioRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.04.14.041434>

*Lee, I. C., Huo, T.II, and Huang, Y. H. (2020). Gastrointestinal and liver manifestations in patients with COVID-19. *J. Chin. Med. Assoc. JCMA* 83, 521– 523. doi: 10.1097/jcma.0000000000000319

***Lee, I. C., Huo, T.II, and Huang, Y. H.** (2020). Gastrointestinal and liver manifestations in patients with COVID-19. *J. Chin. Med. Assoc. JCMA* 83, 521–523. Doi: 10.1097/jcma.0000000000000319 91

***Li, F.** (2016). Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu. Rev. Virol.* 3, 237–261. Doi: 10.1146/annurev-virology-110615042301

* **Li M-Y, Li L, Zhang Y, Wang X-S.** Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infect Dis Poverty.* 2020;9:45.

M

***McIntosh K, Becker WB, Chanock RM.** Growth in suckling-mouse brain of “IBV-LIKE” viruses from patients with upper respiratory tract disease. 1967;1967(Ic):2268–73.

***Monto, A.S.** (1974). Medical reviews. Coronaviruses. *Yale J. Biol. Med.* 47, 234. 16-*Traité de virologie médicale, édition 2019*

***Masters, P.S.** (2006). The molecular biology of coronaviruses. *Adv. Virus Res.* 66, 193–292.

***M. Tiwari, D. Mishra,** Investigating the genomic landscape of novel coronavirus (2019-nCoV) to identify non-synonymous mutations for use in diagnosis and drug design, *J. Clin. Virol.* 128 (2020) 104441, <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104441>.

***McBride R, van Zyl M, Fielding BC.** 2014. The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses* 6:2991–3018. <https://doi.org/10.3390/v6082991>

***MohdGazzali A, et al.** *Molecules.* 2020 Sep 1;25(17):3980.
Doi: 10.3390/molecules25173980

***M Hoffmann, H Kleine-Weber, S Schroeder, et al.,** SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor, *Cell* 181 (2020) 271–280 e8.

***M Hoffmann, H Kleine-Weber, Pohlmann S** AMultibasic, Cleavage site in the spike protein of SARS-CoV-2 is essential for infection of human lung cells, *Mol. Cell* 78 (2020) 779-84 e5.

***M. Eigen,** Error catastrophe and antiviral strategy, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99 (2002) 13374–13376.

***McAloon C, Collins Á, Hunt K, et al.** Incubation period of COVID-19: a rapid systematic review and meta-analysis of observational research. *BMJ Open.* 2020 Aug

16;10(8): e039652. Full text

<https://bmjopen.bmj.com/content/10/8/e039652> Abstract

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32801208?tool=bestpractice.bmj.com>.

***M. Williams, B.N. Lambrecht, H. Hammad**, Division of labor between lung dendritic cells and macrophages in the defense against pulmonary infections, *Mucosal Immunology* 6 (3) (2013) 464–473.

N

***Neuman BW, Kiss G, Kunding AH, Bhella D, Baksh MF, Connelly S, Droese B, Klaus JP, Makino S, Sawicki SG, Siddell SG, Stamou DG, Wilson IA, Kuhn P, Buchmeier MJ**. 2011. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *J Struct Biol* 174:11–22. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2010.11.021>.

***Nal B, Chan C, Kien F, Siu L, Tse J, Chu K, Kam J, Staropoli I, Crescenzo-Chaigne B, Escriou N, vander Werf S, Yuen K-Y, Altmeyer R**. 2005. Differential maturation and subcellular localization of severe acute respiratory syndrome coronavirus surface proteins S, M and E. *J Gen Virol* 86:1423–1434. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80671-0>

***Nieto-Torres JL, DeDiego ML, Verdiá-Báguena C, Jimenez-Guardeño JM, ReglaNava JA, Fernandez-Delgado R, Castaño-Rodríguez C, AlcarazA, Torres J, Aguilera VM, Enjuanes L**. 2014. Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLoS Pathog* 10: e1004077. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004077>. **44-**
Pervushin K, Tan E, Parthasarathy K, Lin X, Jiang FL, Yu D, Vararattanavech A, Soong TW, Liu DX, Torres J. 2009. Structure and inhibition of the SARS coronavirus envelope protein ion channel. *PLoS Pathog* 5: e1000511. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000511>.

***Naqvi, A. A. T., Fatima, K., Mohammad, T., Fatima, U., Singh, I. K., Singh, A., ... Hassan, M. I.** (2020). Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 165878. Doi: 10.1016/j.bbadis.2020.165878

***Nicosia R.F., Ligresti G., Caporarello N., Akilesh S., Ribatti D**. COVID19 vasculopathy : mounting evidence for an indirect mechanism of endothelial injury. *Am J Pathol*. 2021 DOI : 10.1016/j.ajpath.2021.05.007. [Article PMC gratuit] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

P

***Paybast, S., Emami, A., Koosha, M., and Baghalha, F.** (2020). Novel Coronavirus Disease (COVID-19) and Central Nervous System Complications: What Neurologist Need to Know. *Acta Neurol. Taiwanica* 29 (1), 24–31

- ***Patel VB, Bodiga S, Basu R, et al.** Loss of angiotensin-converting enzyme-2 exacerbates diabetic cardiovascular complications and leads to systolic and vascular dysfunction: a critical role of the angiotensin II/AT1 receptor axis. *Circ Res.* 2012;110:1322-1335
- ***Paybast, S., Emami, A., Koosha, M., and Baghalha, F.** (2020). Novel Coronavirus Disease (COVID-19) and Central Nervous System Complications: What Neurologist Need to Know. *Acta Neurol. Taiwanica* 29 (1), 24–31.
- ***P.P. Liu, et al.**, The Science Underlying COVID-19: Implications for the Cardiovascular System, *Circulation* (2020).
- ***Prasad S, Potdar VA.** Transmission electron microscopy imaging of SARS-CoV-2. 2020;(May).
- * **Pretorius, E., Vlok, M., Venter, C., Bezuidenhout, JA, Laubscher, GJ et Steenkamp, J.** (2021). La pathologie persistante des protéines de coagulation dans les séquelles COVID-19 longues/post-aiguës de COVID-19 (PASC) s'accompagne d'une augmentation des niveaux
- ***P. Zhou, X.-L. Yang, X.-G. Wang, B. Hu, L. Zhang, W. Zhang, H.-R. Si, Y. Zhu, B. Li, C.-L. Huang, H.-D. Chen, J. Chen, Y. Luo, H. Guo, R.-D. Jiang, M.Q. Liu, Y. Chen, X.- R. Shen, X.Wang, X.-S. Zheng, K. Zhao, Q.-J. Chen, F. Deng, L.-L. Liu, B. Yan, F.-X. Zhan, Y.-Y. Wang, G.-F. Xiao, Z.-L. Shi,** A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin, *Nature* 579 (2020) 270–273, <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>.

Q

- ***Q Wang, J Wu, H Wang, et al.**, Structural basis for RNA replication by the SARS– CoV-2 polymerase, *Cell* 182 (2020) 417–428 e13
- ***Q. Ruan, et al.**, Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China, *Intensive Care Med* (2020).

R

- ***Rice, G.I., Thomas, D.A., Grant, P.J., Turner, A.J., Hooper, N.M.**, 2004. Evaluation of angiotensin-converting enzyme (ACE), its homologue ACE2 and neprilysin in angiotensin peptide metabolism. *Biochem. J.* 383 (Pt 1), 45–51.

S

- ***Sohrabi, C.; Alsafi, Z.; O'Neill, N.; Khan, M.; Kerwan, A.; Al-Jabir, A.; Iosifidis, C.; Agha, R.** World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19). *Int. J. Surg.* 2020, 76, 71–76. [CrossRef]
-

***Sheikh A, Al-Taher A, Al-Nazawi M, Al-Mubarak AI, Kandeel M.** 2020. Analysis of preferred codon usage in the coronavirus N genes and their implications for genome evolution and vaccine design. *J Virol Methods* 277:113806.

<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2019.113806>.

***Stohlman SA, Bric RS, Nelson GN, Soe LH, Welter LM, Deans RJ.**

1988. Specific interaction between coronavirus leader RNA and nucleocapsid protein. *J Virol* 62:4288–4295. <https://doi.org/10.1128/JVI.62.11.4288-4295.1988>.

***S Buratta, B Tancini, K Sagini, et al.**, Lysosomal exocytosis, exosome release and secretory autophagy: the autophagic- and endo-lysosomal systems go extracellular, *Int. J. Mol. Sci.* 21 (2020). 61- Trends in Immunology, December 2020, Vol. 41, No. 12

***Sanjuan, R., Nebot, M.R., Chirico, N., Mansky, L.M., Belshaw, R.,** 2010. Viral mutation rates. *J. Virol.* 84, 9733–9748.

***S.F. Pedersen, Y.C. Ho,** SARS-CoV-2: a storm is raging, *J Clin Invest* 130 (5) (2020) 2202–2205.

***S. Lukassen, et al.**, SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells, *Embo j* (2020) e105114.

***S.L. Fink, B.T. Cookson,** Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells, *Infect Immun* 73 (4) (2005) 1907– 1916.

***Smith K.D., Akilesh S.** Pathogenesis of coronavirus disease 2019 associated kidney injury. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2021 ;30 :324– 331. [PubMed] [Google Scholar

***S. Chaibi, J. Boussier, W. El Hajj, Y. Abitbol, S. Taieb, C. Horaist, V. Jouannaud, P. Lahmek, S. Nahon** P.161 - Perturbations du bilan hépatique et infection COVID-19 : les résultats d'une étude de cohorte monocentrique

T

***Tarek Alouane, et al.** Genomic Diversity and Hotspot Mutations in 30,983 SARSCoV-2 Genomes: Moving Toward a Universal Vaccine for the “Confined Virus”? *Pathogens* 2020, 9, 829; doi:10.3390/pathogens9100829

***Tyrrell DAJ, Bynoe ML.** Cultivation of Novel Type of Commoncold Virus in Organ Cultures. 1965;(June):1467–70.

* **Thomas MC, Pickering RJ, Tsorotes D, et al.** Genetic Ace2 deficiency accentuates vascular inflammation and atherosclerosis in the ApoE knockout mouse. *Circ Res.* 2010;107:888-897.

*Tang, X., Wu, C., Li, X., Song, Y., Yao, X., Wu, X., et al.(2020). On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. Natl. Sci. Rev. 7, 10121023. Doi: 10.1093/nsr/nwaa036

*Thakur B, Dubey P, Benitez J, Torres JP, Reddy S, Shokar N, et al. A systematic review and metaanalysis of geographic differences in comorbidities and associated severity and mortality among individuals with COVID-19. Scientific Reports 2021;11:8562. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88130-w>.

*Trejo-Gabriel-Gal n, J. M. (2020). Stroke as a complication and prognostic factor of COVID-19. Neurol. (Barcelona Spain) 35, 318–322. Doi: 10.1016/j.nrl.2020.04.015

*Thakur B, Dubey P, Benitez J, Torres JP, Reddy S, Shokar N, et al. A systematic review and metaanalysis of geographic differences in comorbidities and associated severity and mortality among individuals with COVID-19. Scientific Reports 2021;11:8562. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88130-w>.

*Trejo-Gabriel-Gal n, J. M. (2020). Stroke as a complication and prognostic factor of COVID-19. Neurol. (Barcelona Spain) 35, 318–322. doi: 10.1016/j.nrl.2020.04.015

*To KK-W, Tsang OT-Y, LeungW-S, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. Lancet Infect Dis. 2020;20(5):565-574. doi:10.1016/S1473-3099(20)30196-1

U

*U. Maccio, et al., SARS-CoV-2 leads to a small vessel endotheliitis in the heart, EBioMedicine 63 (2021) 103182.

V

*V. Bajaj, et al., Aging, Immunity, and COVID-19: How Age Influences the Host Immune Response to Coronavirus Infections? Frontiers in Physiology 11 (1793) (2021).

*Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel A, et al. Correspondence Electron microscopy a challenging task. The Lancet, : .100. 2021

W

*Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., and Velesler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. Cell 181, 281–292.e286. Doi: 10.1016/j.cell.2020.02.058 87

*Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, WangX, Niu P, Meng J, Zhu Z, Zhang Z, Wang J, Sheng J, QuanL, Xia Z, Tan W, Cheng G, Jiang T. 2020. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019- nCoV) originating in

China, *Cell host & microbe* 27:325–328. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.02.001>. 57-

Malik, Y.A. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2. *Malays. J. Pathol.* 2020, 42, 3–11.

***Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al.** Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med* 2020: e200994, <http://dx.doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>.

***Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al.** Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med* 2020:e200994, <http://dx.doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>.

***Wu Z., McGoogan J.M.** Characteristics of and important lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) outbreak in China : summary of a report of 72,314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA.* 2020 ;323:1239–1242. [PubMed] [Google Scholar]

***Wu C, Chen X, et al.** Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med* 2020 : e200994, <http://dx.doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994>

***Wong G, Liu W, Liu Y, Zhou B, Bi Y, Gao GF.** MERS, SARS, and Ebola : The role of Super-spreaders in infectious disease. *Cell Host Microbe* 2015 ;18(4):398–401.

***Walls A.C., Park Y.-J., Tortorici M.A., Wall A., McGuire A.T., Veesler D.** Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell.* 2020;181(2) 281–292.e6, [Internet], [cité 4 mai 2020] ; disponible sur : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7102599/> [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar]

***Weiss, S.R., and Leibowitz, J.L.** (2011). Coronavirus pathogenesis. *Adv. Virus Res.* 81, 85–164. 86 20- **Lau, S.K.P., and Chan, J.F.W.** (2015). Coronaviruses: emerging and re-emerging pathogens in humans and animals. *Viol. J.* 12, 209.

***Wang N, Shang J, Jiang S, Du L.** Subunit Vaccines Against Emerging Pathogenic Human Coronaviruses. 2020;11(February).

***W. Yang, X. Dang, Q. Wang, M. Xu, Q. Zhao, Y. Zhou, H. Zhao, L. Wang, Y. Xu, J. Wang, S. Han, M. Wang, F. Pei, Y. Wang,** Rapid Detection of SARS-CoV-2 Using

Reverse Transcription RT-LAMP Method, MedRxiv (2020), <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.20030130>.

X

***Xiong, C., Jiang, L., Chen, Y., and Jiang, Q.** (2020). Evolution and variation of 2019- novel coronavirus. Preprint Server Biol. doi: 10.1101/2020.01.30.926477

* **Xiong P, Zeng X, Song MS, et al.** Lack of association between HLA-A, -B and -DRB1 alleles and the development of SARS: a cohort of 95 SARS-recovered individuals in a population of Guangdong, southern China. *Int J Immunogenet.* 2008;35:69-74

Y

***You J, Dove BK, Enjuanes L, DeDiego ML, Alvarez E, Howell G, Heinen P, Zambon M, Hiscox JA.** 2005. Subcellular localization of the severe acute respiratory syndrome 88 coronavirus nucleocapsid protein. *J Gen Virol*86:3303–3310. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81076-0>.

***Y. Pan, et al.**, Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples, *Lancet Infect Dis* 20 (4) (2020) 411–412.

***Y. Suzuki, et al.**, Inflammation and angiotensin II, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 35 (6) (2003) 881–900.

***Y. Lei, et al.**, SARS-CoV-2 Spike Protein Impairs Endothelial Function via Downregulation of ACE 2, *Circulation Research* 128 (9) (2021) 1323–1326.

***Yong G, Zhou B,** MERS, SARS, and Ebola : The role of super-spreaders in infectious disease. *Cell Host Microbe* 2015 ;18(4) :398–401

Z

***Zhu, N.; Zhang, D.; Wang, W.; Li, X.; Yang, B.; Song, J.; Zhao, X.; Huang, B.; Shi, W.; Lu, R.; et al.** A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N. Engl. J. Med.* 2020, 382, 727–733. [CrossRef]

***Zhong NS, Zheng BJ, Li YM, Poon LLM, Xie ZH, Chan KH,** et al. Epidemiology and Cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong, People ' s Republic of China, in February, 2003. 2003;362:1353–8.

***Zhang, L., Jackson, C. B., Mou, H., Ojha, A., Rangarajan, E. S., Izard, T., et al.** (2020b). The D614G mutation in the SARS-CoV-2 spike protein reduces S1 shedding and increases infectivity. Preprint Server Biol. doi: 10.1101/2020.06.12.148726

Références bibliographiques

***Zhang, L., Zetter, M.A., Guerra, E.C., Hernandez, V.S., Mahata, S.K., Eiden, L.E.,** 2021. ACE2 in the second act of COVID-19 syndrome: peptide dysregulation and possible correction with oestrogen. *J. Neuroendocrinol.* 33 (2), e12935.

***Z. Varga, et al.,** Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19, *Lancet* (2020).

A*nnexe*

IF = 4.26



<http://tandfonline.com/itr>



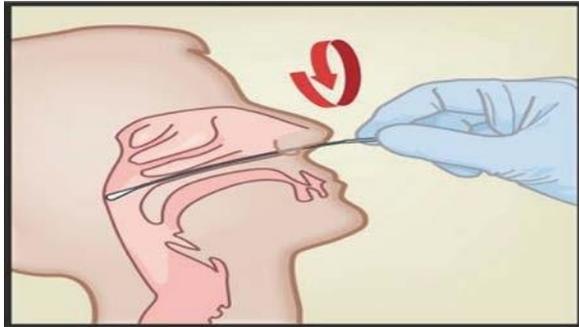
ANNEXES

Annex 1 : Fiche de renseignement

- L'identité du patient : nom, prénom, âge, sexe.
- La date de réception. -
- Le nom du médecin traitant.
- Les signes cliniques -
- Service d'admission.

Annexe 2 : Procédure de prélèvement par écouvillonnage nasopharyngé

Insérer l'écouvillon dans une narine en le passant dans le nasopharynx postérieur (voir Figure 1). Faire pivoter plusieurs fois l'écouvillon par brossage ferme contre le nasopharynx. Sortir l'écouvillon et le placer dans le tube contenant 3 ml de milieu de transport viral ou 3 ml de solution physiologique. Casser l'écouvillon au niveau de la ligne de cassure indiquée et fermer hermétiquement le tube de prélèvement d'échantillon



Prélèvement par écouvillonnage nasopharyngé

Procédure de prélèvement par écouvillonnage nasal

1. Insérer un écouvillon nasal de 1 à 1,5 cm dans une narine. Tourner l'écouvillon contre la paroi interne de la narine pendant 3 secondes en exerçant une pression avec le doigt sur l'extérieur de la narine (voir la Figure 2).



Prélèvement par écouvillonnage nasal dans la première narine

2. Répéter l'opération dans l'autre narine en utilisant le même écouvillon, en exerçant une pression externe sur l'extérieur de l'autre narine (voir la Figure 3). Pour éviter de contaminer l'échantillon, ne pas laisser l'extrémité de l'écouvillon toucher d'autres surfaces que la paroi interne de la narine



Prélèvement par écouvillonnage nasal dans la deuxième narine

3. Sortir l'écouvillon et le placer dans le tube contenant 3 ml de milieu de transport viral ou 3 ml de solution physiologique.

Casser l'écouvillon au niveau de la ligne de cassure indiquée et fermer hermétiquement le tube de prélèvement d'échantillon **Annex 3: Réactifs et instruments**

Matériel fourni

Le kit de test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV contient suffisamment de réactifs pour traiter 10 prélèvements ou échantillons de contrôle qualité. Le kit contient les éléments suivants

:

Cartouches de test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV avec tubes réactionnels intégrés 10

- Bille 1, Bille 2 et Bille 3 (lyophilisées) 1 de chaque par cartouche
- Réactif de lyse 1,0 ml par cartouche
- Réactif de fixation 1,0 ml par cartouche
- Réactif d'éluion 3,0 ml par cartouche
- Réactif de lavage 0,4 ml par cartouche

Pipettes de transfert jetables 10 à 12 par kit

Conservation et manipulation

- Stocker les cartouches du test Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV à une température comprise entre 2 °C et 28 °C.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche avant d'être en mesure de réaliser le test.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est humide ou a fui. **Matériel requis mais non fourni**
- Écouvillon floqué en nylon (n° de référence Copan 502CS01, 503CS01) ou équivalent
- Milieu de transport viral, 3 ml (n° de référence Copan 330C) ou équivalent
- Solution physiologique à 0,90 % (m/v), 3 ml
- Kit de prélèvement d'échantillon pour recherche de virus (numéro de référence Cepheid SWAB/B-100, SWAB/M-100, SWAB/F-100) ou équivalent

GeneXpert, ordinateur, lecteur de codes-barres, manuel d'utilisation.

Matériel disponible mais non fourni

Des contrôles externes sous forme de virus inactivé(s) sont disponibles auprès de Zepto Metrix (Buffalo, NY).

• Contrôle positif externe : N° de réf. NATFRC-6C (NATtrol Flu/RSV/SARS-CoV-2) •

Contrôle négatif externe : N° de réf. NATCV9-6C (Coxsackievirus A9) **Thermocycleur PCR :**



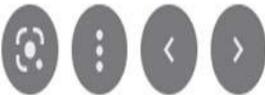
Automate intégré iMagic M7 : p



Centrifugeuse :



Hématomètre :



BC-30s
Automate d'hématologie
Taille minimale, capacités maximales

Coagulomètre :



Annex 4 : Procédure

13.1 Préparation de la cartouche 1.

Sortir une cartouche du coffret.

2. Vérifier que le tube de transport d'échantillon est fermé.
3. Mélanger l'échantillon en retournant rapidement 5 fois le tube de transport d'échantillon.

Ouvrir le capuchon du tube de transport de l'échantillon.

4. Ouvrir le couvercle de la cartouche.
5. Sortir la pipette de transfert de l'emballage.
6. Presser complètement la poire supérieure de la pipette de transfert **jusqu'à l'aplatir entièrement**. Tout en maintenant la poire parfaitement aplatie, placer l'embout de la pipette dans le tube de transport d'échantillon (voir la Figure 4).

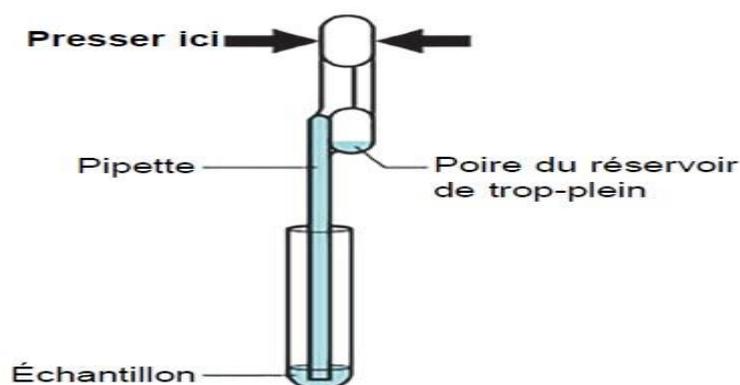


Figure 4. Pipette de transfert

7. En gardant la pipette sous la surface du liquide, relâcher lentement la poire supérieure de la pipette afin de remplir la pipette d'échantillon avant de la retirer du tube. Il est normal que du liquide pénètre dans le réservoir de trop-plein (voir la Figure 4). Vérifier que la pipette ne contient pas de bulles.

8. Pour transférer l'échantillon dans la cartouche, presser complètement la poire supérieure de

la pipette de nouveau jusqu'à l'aplatir pour vider le contenu de la pipette (300 μ l) dans la grande ouverture (chambre à échantillon) de la cartouche montrée sur la Figure 5. Il est possible qu'un peu de liquide reste dans le réservoir de trop-plein. Jeter la pipette usagée.

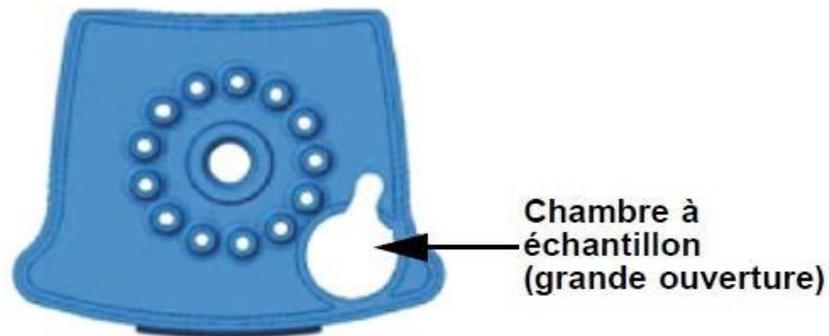


Figure 5. Cartouche Xpert Xpress SARS-CoV-2/Flu/RSV (vue de dessus)

Remarque Faire attention à distribuer tout le volume du liquide dans la chambre à échantillon. Des résultats faussement négatifs peuvent être observés si la quantité d'échantillon ajoutée à la cartouche est insuffisante.

Amorces et sondes

Name	Sequences (5'-3')	Length (bases)	PCR product size	Ref.
RdRp gene / nCoV_IP2				
nCoV_IP2-12669Fw	ATGAGCTTAGTCCTGTTG	17	108 bp	1
nCoV_IP2-12759Rv	CTCCCTTGTGTGTTGT	18		
nCoV_IP2-12696bProbe(+)	AGATGTCTTGTGCTGCCGGTA [5']Hex [3']BHQ-1	21		
RdRp gene / nCoV_IP4				
nCoV_IP4-14059Fw	GGTAACTGGTATGATTTTCG	19	107 bp	1
nCoV_IP4-14146Rv	CTGGTCAAGGTTAATATAGG	20		
nCoV_IP4-14084Probe(+)	TCATACAAACCACGCCAGG [5']Fam [3']BHQ-1	19		
E gene / E_Sarbeco				
E_Sarbeco_F1	ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT	18	125 bp	2
E_Sarbeco_R2	ATATTGCAGCAGTACGCACACA	20		
E_Sarbeco_P1	ACACTAGCCATCCTTACTGCGCTTCG [5']Fam [3']BHQ-1	20		

1/ Centre national de référence des virus respiratoires, Institut Pasteur, Paris.

2/ Corman et al. Eurosurveillance1

Les jeux d'amorces nCoV_IP2 et nCoV_IP4 peuvent être multiplexés. Les deux mélanges réactionnels sont décrits ci-dessous.

Régions d'amplification PCR (positions selon SARS-CoV, NC_004718) nCoV_IP2

/ 12621-12727 gène E / 26141-26253

nCoV_IP4 / 14010-14116

EXTRACTION DE L'ACIDE NUCLÉIQUE

L'ARN est extrait des spécimens à l'aide du virus NucleoSpin Dx (Macherey Nagel réf. 740895.50).

L'ARN extrait de 100 µl d'échantillon original, est élué dans 100 µl de tampon d'élution.

CYCLES D'AMPLIFICATION (SYSTÈME LIGHTCYCLER)

Reverse transcription	55°C	20 min	x1	
Denaturation	95°C	3 min	x1	
Amplification	95°C	15 sec	x50	Acquisition
	58°C	30 sec		
Cooling	40°C	30 sec	x1	