

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1  
FACULTE DE MEDECINE  
DEPARTEMENT DE PHARMACIE

Thèse d'exercice de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme

**DOCTEUR EN PHARMACIE**

---

**Anomalies morphologiques et physiologiques  
de globules rouges au cours du COVID-19**

---

*Réalisé par :*

BRAGUE Mouna Rajaa

BENBERTAL Bouchra

*Sous la direction de :*

Dr. Hamel. H : Maître assistante en  
hémobiologie et transfusion sanguine

*Soutenu le 30 Septembre 2021, Devant le jury :*

ABDI S. : Professeur "chef service" en biochimie - Présidente  
MIHOUB N. : MA en anesthésiologie et réanimation - Examinatrice  
BOUDEHDIR A. : MA en anesthésiologie et réanimation - Examinateur

Année universitaire  
2020/2021

# Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la santé, la volonté, l'amour du savoir et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous exprimons nos profonds remerciements à notre promotrice, docteur **H.HAMEL** pour l'orientation et les conseils qu'elle nous a prodigué, pour sa patience et son encouragement.*

*Veillez croire chère docteur à notre respectueuse gratitude et considération.*

*Au Professeure **S. ABDI**, qui a bien voulu honoré ce travail en acceptant de présider le jury, aux membres du jury docteur **N.MIHOUB** et docteur **A.BOUDAHDIR** pour avoir accepté de faire partie du jury. Nos vifs remerciements pour l'intérêt que vous avez porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par vos propositions.*

*Nos remerciements vont également à tout le personnel du laboratoire du CHU Frantz-Fanon, **BLIDA** et aux techniciennes, **Fatima** et **Nessrine**, du laboratoire de la faculté de médecine, auprès desquels nous avons trouvé un accueil chaleureux, l'aide et l'assistance dont on a eu besoin.*

*Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui grâce à leur soutien et leurs encouragements, nous avons pu réaliser ce travail.*

## Dédicaces

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie je dédic cet humble travail :*

*A mon pays et ma nation et à tous les fidèles qui luttent pour la renaissance de leur patrie*

*Aux personnes les plus chères au monde, à mes très chers parents*

**Lakhdar et Fadila**

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour et ma profonde gratitude pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance.*

*Ce travail représente le si peu avec lequel je pourrai vous remercier, et qu'Allah tout puissant vous accorde le paradis et vous procure santé, bonheur et longue vie.*

*A mes adorables soeurs **Assia, Chifaa, Abla** et mes chers frères **Oussama, Bilal, Mondir et Wafi** vous êtes la prunelle de mes yeux et mon soutien dans la vie. Votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur, puisse Dieu vous garder, éclairer votre route et vous aider à réaliser vos vœux les plus chers.*

*A la famille qui nous a toujours embrassés et contenus, le père et la mère éducateurs **Farouk Kerbiche et Hayat** Qu'Allah vous récompense le meilleur et vous protège de tout mal.*

*A ma chère binôme **Bouchra** .. A tous les moments qu'on a partagés, à tous nos souvenirs, Tu étais et tu resteras toujours une sœur, je te souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite.*

*A **Ilham** l'amie qui est toujours proche malgré la distance, qui est toujours à mes côtés malgré toutes les difficultés, Les mots ne peuvent exprimer combien je t'aime et ravi de vous avoir.*

*A mes sœurs en Dieu, votre connaissance est une bénédiction qui requiert des louanges et des actions de grâces constantes.*

*A mes très chère amies et compagnons de vie **Wassila, Hadjer, Widad, Samia et Nadjia** en témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour vous.*

*A tous les cousins, les voisins et les amis qui me sont très chers et que j'ai omis de citer.*

**Mouna Rajaa**

## وما توفيقى إلا بالله

الحمد لك يا الله ما تنهى درب ولا ختم جهد ولا تم سعي إلا بفضلك، الحمد لك يا لله على البلوغ ثم الحمد لك على التمام ..  
لا أذكر منك إلا الجليل، ولم أرى منك إلا التفضيل، خيرك لي شامل، وصنعك لي كامل، ولطفك بي كافل، ونعمك  
عندي متصلة، وفضلك علي متواتر، صدقت رجائي، وصاحبت أسفاري، وأكرمت أحضاري .. فلك الحمد حمداً متواليًا،  
متواتراً، متسقاً، متسعاً، مستوثقاً، يدوم بدوامك لا يبداً أبداً..

إليك يا من لم أجد كلمات تُصِفُكَ، ولا حروف أصفُها فتكفي للحديث عنك، إليك يا من بسمتها غابتي وما تحت قدميها  
جنتي، إليك يا قدوتي وفضيلتي .. إليك يا أمي "فضيلة يعقوبي" ..

إليك يا قوتي واستقامة ظهري، إليك يا من إذا ذكرت خصاله من أي فضل أبتدي، إليك يا من جُدت لي منذ بداية  
مولدي، حسبي نعيماً في الدنيا أنك يا "مسعود" والدي ..

إلى شمسي المضيئة وتوأمتي .. أختي "شمس الضحى"  
إلى سندي وعضيدي .. أخي الأكبر "محمد ضياء الدين"  
إلى بهجة حياتي وشيبي .. أخي الأصغر "علي شهاب الدين"  
كلّ يوم يزداد إيماني بكم، أنتم الظل والجناح والأرض الثابتة وأنّ الإنتماء الأقوى إليكم وأنّ ترابطنا من مقومات الحياة ..  
أدامكم الله ذخرا لي

إلى عائلتي الكبيرة " آل بن برطال" و "آل يعقوبي"، إليكم يا من زرعتم ورداً في حديقة قلبي، وضدتم جرحاً اندمل،  
ورفعتم رأساً كاد أن يميل، وقدمتم معروفاً وأسديتم نصيحاً، أقول لكم: شكراً بحجم السماء، وإن كانت بحجم معروفتكم لا  
تكفي، فبعض المواقف تتضاءل أمامها كلمة شكراً ..

إلى رفيقة الدرب والكفاح، هدية الرحمن لي، إلى من تُشرق بوجودها الحياة وتهون بقربها الأوجاع .. إليك يا ذات  
الروح الرضية والخطى التقيّة، يا من تُربّت على حنايا القلب بعميق المحبة والأخوة ..  
أدعوا الله أن ييقبك بقربي دنيا وجنة .. "برق مني رجاء"

إليكنّ - كلّ واحدة باسمها- يا من استشعرت لصف اللطيف ورزقه العظيم بأن أنعم عليّ بصحبة مثلكن، دخلت وحيدة  
ونجرت بأكثر من خمسة عشرة أختاً، كلّما التفت لواحدة منهن قلتُ هي الأروع، أخوة تُذكرني بالله وتشدّ على يدي  
لطريق النور بحبّ وصفاء .. إلى كل من شاركتني أيامي، ودعت لي، لكل من أحييت في قلبي همة دون حتى أن تدري،  
لمن صبرت على تقصيري وبعدي وانشغالي ونسجت لي من حبها ألف عذر وغلفته بالدعاء، أشهد الله أنّي أحبكن فيه،  
وأسأله أن يجمعني بكنّ في جنّاته على سرر مُقابلين ..

إليكم أهدي عملي المتواضع هذا ..

---

# TABLE DES MATIÈRES

Liste des tableaux	vi
Table des figures	ix
Introduction	1

## Partie Bibliographique

<b>1 Anatomie et physiologie du globule rouge</b>	<b>4</b>
I Structure du globule rouge . . . . .	4
1 La membrane érythrocytaire . . . . .	4
2 L'hémoglobine . . . . .	5
3 Rôles de l'hémoglobine : . . . . .	7
II Physiologie du globule rouge . . . . .	9
1 Voie de Embden-Meyerhoff (glycolyse anaérobie) : . . . . .	10
2 Voie des pentoses phosphates (glycolyse aérobie) . . . . .	11
III Interactions intra-érythrocytaires . . . . .	11
1 Interactions membrane-membrane . . . . .	11
2 Interactions de cytosquelette . . . . .	12
3 Interactions membrane-cytosol . . . . .	12

---

4	Interaction cytosol-cytosol . . . . .	13
<b>2</b>	<b>COVID-19</b>	<b>14</b>
I	Propriétés virales . . . . .	14
1	Structure . . . . .	14
2	Génome . . . . .	15
II	Épidémiologie . . . . .	16
1	Origine et dynamique du SARS-CoV-2 . . . . .	16
2	Transmission . . . . .	16
3	Contagiosité et période d'incubation . . . . .	17
4	Facteurs de risque . . . . .	18
III	Physiopathologie . . . . .	18
1	Cycle de réplication du SARS-CoV-2 . . . . .	18
2	Rôle paradoxal de l'ACE2 . . . . .	20
IV	Manifestations cliniques . . . . .	20
V	Démarche diagnostic . . . . .	21
1	Diagnostic d'orientation . . . . .	21
2	Diagnostic de certitude . . . . .	21
VI	Prise en charge thérapeutique et prévention . . . . .	22
1	Démarche thérapeutique . . . . .	22
2	Prévention . . . . .	23
<b>3</b>	<b>Anomalies des globules rouges au cours de COVID-19</b>	<b>24</b>
I	Le SARS-CoV-2 s'attaque-t'il le sang ? . . . . .	24
II	Globules rouges et COVID-19 . . . . .	25
III	Rappel sur le stress oxydant . . . . .	26
IV	Mécanismes de défense de l'organisme contre le stress oxydant . . . . .	27
V	Les systèmes de défense antioxydant au cours du COVID-19 . . . . .	27
VI	Mécanismes de génération du stress oxydant au cours de COVID-19 . . . . .	28
1	Mécanisme inclue la libération du fer dans la circulation sanguine par les globules rouges . . . . .	28
2	Mécanisme inclue la septicémie . . . . .	29
3	Mécanisme implique l'activité de l'ACE2 . . . . .	30
4	Mécanisme inclue la neutrophilie . . . . .	31
VII	Conséquences du stress oxydatif sur les globules rouges . . . . .	32

---

---

## Partie pratique

<b>1 Objectifs</b>	<b>35</b>
<b>2 Matériels et méthodes</b>	<b>36</b>
I Cadre et type d'étude . . . . .	36
II Population d'étude . . . . .	36
1 Population malade . . . . .	36
2 Population saine . . . . .	37
III Réactifs . . . . .	37
IV Appareillage . . . . .	37
V Méthodes . . . . .	38
1 Recueil des prélèvements . . . . .	38
2 Réalisation des tests . . . . .	38
3 Recueil des données . . . . .	40
4 Analyse statistique des données . . . . .	40
VI Étude quantitative et qualitative des éléments figurés du sang . . . . .	41
1 Hémogramme . . . . .	41
2 Etude qualitative des globules rouges et des globules blancs . . . . .	42
<b>3 Résultats</b>	<b>43</b>
I Description épidémiologique de la population étudiée . . . . .	43
1 Nombre d'échantillon . . . . .	43
2 Répartition de la population selon l'âge . . . . .	44
3 Répartition de la population selon le sexe . . . . .	45
4 Répartition de la population malade selon le séjour d'hospitalisation . . . . .	46
5 Répartition des malades de la forme sévère/critique selon leur évolution de l'état . . . . .	46
II Perturbations des paramètres hémobiotiques à l'admission des malades . . . . .	48
1 Lignée érythrocytaire . . . . .	48
2 Lignée leucocytaire . . . . .	50
III Perturbation des paramètres du stress oxydatif à l'admission . . . . .	52
1 Méthémoglobine . . . . .	52
2 Autres paramètres : . . . . .	57
IV Étude cinétique des paramètres érythrocytaires, leucocytaires et du stress oxydatif en fonction de l'évolution et la sévérité de l'infection à COVID-19 . . . . .	58
1 Paramètres hémobiotiques . . . . .	58

---

2	Autres paramètres . . . . .	64
V	Anomalies morphologiques observés à l'admission . . . . .	67
VI	Perturbations et anomalies morphologiques induites expérimentalement . . . . .	72
1	Les frottis sanguins des sujets de la population saine . . . . .	72
2	Anomalies morphologiques après 24 heures d'incubation . . . . .	73
3	Méthémoglobinémie après 24 heures d'incubation . . . . .	77
VII	Étude de corrélation . . . . .	78
1	Les corrélations chez la population malade totale . . . . .	78
2	Les corrélations chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution/décédés . . . . .	78
3	Autres corrélations . . . . .	80
4	Discussion . . . . .	81
	Conclusion . . . . .	86
A	Protocole du test à TBARS . . . . .	88
B	Protocole du test à ABTS . . . . .	90
	Bibliographie . . . . .	

---

## LISTE DES TABLEAUX

2.1	Valeurs normales de l'hémogramme chez l'adulte . . . . .	41
3.1	Répartition de la population saine et malade selon l'âge . . . . .	44
3.2	Répartition de la population malade selon l'âge . . . . .	44
3.3	Répartition de la population saine et malade selon le sexe . . . . .	45
3.4	Répartition de la population malade selon le sexe . . . . .	45
3.5	Répartition de la population malade selon le séjour d'hospitalisation . . . . .	46
3.6	Répartition des malades de la forme sévère/critique selon leur évolution . . . . .	46
3.7	Anomalies des paramètres érythrocytaires chez la population saine et malade à l'admission . . . . .	48
3.8	Anomalies des paramètres érythrocytaires chez la population malade à l'admission par rapport à la sévérité de la maladie . . . . .	49
3.9	Anomalies des paramètres érythrocytaires chez les malades de la forme sévère/critique à l'admission par rapport à leur évolution . . . . .	50
3.10	Anomalies des paramètres leucocytaires chez la population saine et malade à l'admission . . . . .	50
3.11	Anomalies des paramètres leucocytaires chez la population malade à l'admission . . . . .	51
3.12	Anomalies des paramètres leucocytaires chez les malades de la forme sévère/critique à l'admission par rapport à leur évolution . . . . .	52
3.13	Répartition des malades des 3 formes selon la méthémoglobinémie normale ou pathologique . . . . .	52

3.14 Répartition des malades des 3 formes selon les intervalles de la méthémoglobinémie	53
3.15 Le taux de la Méthémoglobine chez les 3 formes à l'admission	53
3.16 Calcul de sensibilité et de spécificité de méthémoglobinémie à l'admission par rapport à l'évolution de la maladie	54
3.17 Calculs des cordonnés de courbe de ROC de méthémoglobinémie à l'admission par rapport à l'évolution de la maladie	54
3.18 Répartition des malades de la forme sévère/critique selon leur évolution et selon les intervalles de la méthémoglobinémie	55
3.19 Calcul de sensibilité et de spécificité de méthémoglobinémie à l'admission par rapport à l'évolution de la maladie	56
3.20 Calculs des cordonnés de courbe de ROC de méthémoglobinémie à l'admission par rapport à l'évolution de la maladie	56
3.21 Répartition des malades de la forme sévère/critique à l'admission selon le taux de méthémoglobine et selon leur évolution	56
3.22 paramètres du stress oxydatif chez la population malade à l'admission	57
3.23 Anomalies des paramètres du stress oxydatif chez les malades de la forme sévère/critique à l'admission et selon leur évolution	57
3.24 Répartition de la population malade selon le taux de PNN vacuolées	71
3.25 Répartition des malades de la forme sévère/critique selon le taux de PNN vacuolées	71
3.26 Répartition de la population malade selon Taux de méthémoglobine après 24h d'incubation du plasma de malade COVID-19 avec le culot globulaire d'un sujet sain	77
3.27 Répartition de la population malade selon Taux de méthémoglobine après 24h d'incubation du plasma de malade COVID-19 forme sévère avec le culot globulaire d'un sujet sain	77
3.28 Corrélations chez la population malade totale à $j_0$ , $j_1$ et $j_2$ entre Mét-Hb et GR, Hb, GB, PNN, MDA et ABTS	78
3.29 Corrélations chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution/décédés à $j_0$ , $j_1$ et $j_2$ entre Mét-Hb et GR, Hb, GB, PNN, MDA et ABTS	78
3.30 Corrélations chez la forme modérée et légère à $j_0$ , $j_1$ et $j_2$ entre Mét-Hb et GR, Hb, GB, PNN, MDA et ABTS	79
3.31 Autres corrélations détectées chez la forme modérée et légère à $j_0$ et $j_1$	80

# TABLE DES FIGURES

## Les figures de la partie théorique

1.1	Structure schématique de la membrane du globule rouge . . . . .	5
1.2	Structure schématique de l'hémoglobine (a) et de l'hème (b) . . . . .	6
1.3	Liaisons hème-globine . . . . .	6
1.4	Les liaisons entre les quatre sous-unités . . . . .	7
1.5	Courbe de Barcroft aussi appelée courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine	8
1.6	Voie principale de la glycolyse . . . . .	10
2.7	Effet du 2,3-bisphosphoglycérate (2,3-DPG) sur la courbe de saturation en $O_2$	10
2.8	Schéma de la voie des pentoses phosphate . . . . .	11
2.1	Structure du virion et génome du SARS-CoV-2 . . . . .	15
2.2	Origine et dynamique du SARS-CoV-2 . . . . .	16
2.3	Période de Contagiosité du SARS-COV2 . . . . .	17
2.4	Le cycle viral du SARS-CoV-2 . . . . .	18
2.5	Rôle de l'ECA et de l'ACE2 dans la modulation de la pression artérielle dans le système rénine-angiotensine (RAS) . . . . .	19
3.1	Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (ERO) et des antioxydants régulateurs de leur production <sup>8</sup> . . . . .	28
3.2	L'infection par le SRAS-CoV-2 peut entraîner une libération de ROS (=ERO) induite par les neutrophiles. . . . .	30

3.3	Pathogénie moléculaire du SRAS-CoV-2 . . . . .	31
<b>Les figures de la partie pratique</b>		
2.1	Globules rouges normaux . . . . .	42
2.2	Globules blancs normaux . . . . .	42
3.1	Répartition de la population malade selon la sévérité . . . . .	44
3.2	Répartition de la population malade selon l'évolution d'état des malades . . . . .	47
3.3	Anomalies des paramètres érythrocytaires chez la population saine et malade à l'admission . . . . .	48
3.4	Courbe de ROC . . . . .	54
3.5	Courbe de ROC . . . . .	55
3.6	Étude cinétique des paramètres érythrocytaires chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution et décédé . . . . .	58
3.7	Étude cinétique des paramètres leucocytaires chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution et décédé . . . . .	59
3.8	Étude cinétique des paramètres érythrocytaires chez la forme modérée . . . . .	60
3.9	Étude cinétique des paramètres leucocytaires chez la forme modérée . . . . .	61
3.10	Étude cinétique des paramètres érythrocytaires chez la forme légère . . . . .	62
3.11	Étude cinétique des paramètres leucocytaires chez la forme légère . . . . .	63
3.12	Étude cinétique des paramètres du stress oxydatif chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution et décédé . . . . .	64
3.13	Étude cinétique des paramètres du stress oxydatif chez la forme modérée . . . . .	65
3.14	Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme sévère de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GR. . . . .	67
3.15	Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme modérée de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GR. . . . .	67
3.16	Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme légère de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GR. . . . .	68
3.17	Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme sévère de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GB. . . . .	69
3.18	Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme modérée de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GB. . . . .	70
3.19	Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme légère de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GB. . . . .	70

3.20 Frottis sanguins de sujets de la population saine avant incubation avec plasma du malade COVID-19 . . . . .	72
3.21 Frottis sanguins de sujets de la population saine après incubation avec plasma du malade COVID-19 . . . . .	72
3.22 Photos de frottis sanguins après mélange du plasme de malade COVID-19 forme sévère avec le culot globulaire d'un sujet sain . . . . .	73
3.23 Photos de frottis sanguins après mélange du plasma de malade COVID-19 forme modérée avec le culot globulaire d'un sujet sain . . . . .	73
3.24 Photos de frottis sanguins après mélange du plasma de malade COVID-19 forme légère avec des le culot globulaire d'un sujet sain . . . . .	74
3.25 Aspect morphologique des GB après mélange du plasma d'un malade COVID-19 d'une forme sévère avec le culot globulaire d'un sujet sain . . . . .	75
3.26 Aspect morphologique des GB après mélange du plasma d'un malade COVID-19 d'une forme modérée avec le culot globulaire d'un sujet sain . . . . .	75
3.27 Aspect morphologique des GB après mélange du plasma d'un malade COVID-19 d'une forme modérée avec le culot globulaire d'un sujet sain . . . . .	76

## GLOSSAIRE

**Comorbidité** désigne la présence de maladies et/ou divers troubles aigus ou chroniques s'ajoutant à une maladie initiale. 36

**Cytokine** substance élaborée par le système immunitaire, réglant la prolifération de cellules. 26, 31

**Cytosquelette** est un réseau filamenteux à l'intérieur d'une cellule, lui conférant ses propriétés mécaniques. 5, 33

**Erythrocyte** hématie, globule rouge. 10, 29

**Glutathion** est l'antioxydant intracellulaire le plus important de l'organisme. 13, 27

**Hypoxie** diminution de la quantité d'oxygène que le sang distribue aux tissus. 25, 32

**Hypoxémie** diminution anormale de la quantité d'oxygène contenue dans le sang. 25, 32

**Hématocrite** rapport du volume des hématies au volume sanguin. 38, 41

**Mutagène** agent susceptible de provoquer des mutations de l'ADN. 26

**Métalloprotéine** hétéroprotéine colorée dont le groupement prosthétique renferme un élément métallique. 5

**Méthémoglobine** est une forme de l'hémoglobine dans laquelle le cation de fer de l'hème est à l'état d'oxydation +3 (ferrique), et non à l'état d'oxydation +2 (ferreux) qui est celui de l'hémoglobine. iii, vi, 2, 13, 32, 35, 37-39, 52, 53, 77, 81

**Neutrophilie** est l'augmentation dans le sang de certains globules blancs appelés polynucléaires neutrophiles. ii, 31

**Oxymétrie** mesure du taux de saturation de l'hémoglobine en oxygène. 32, 33

**Pandémie** épidémie qui s'étend à une population entière, à un continent, voire au monde entier.. 16, 32

**Pangolin** mammifère édenté d'Asie et d'Afrique, au corps couvert d'écailles, qui se roule en boule en cas de danger.. 16

**Paradoxal** qui est contraire à la normale. ii, 20

**Phagocytose** processus de défense cellulaire, fonction destructrice des phagocytes. 29

**Phylogénétique** branche de la génétique traitant des modifications génétiques au sein des espèces animales ou végétales. 15

**Porphyrine** les porphyrines sont des molécules à structures cycliques impliquées dans le transport de l'oxygène lorsqu'elles possèdent un atome de Fer. 6, 28, 29

**Réticulo-endothélial** ensemble de cellules jouant un rôle d'épuration de l'organisme, notamment en absorbant les particules étrangères (phagocytose) et en participant aux réactions de défense immunitaire de l'organisme. 33

**Septicémie** infection générale grave provoquée par le développement de germes pathogènes dans le sang. ii, 29

**Thrombocytose** décrit une augmentation du nombre de plaquettes (thrombocytes) dans le sang. 32

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

ABTS	Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
ACE2	Angiotensin-converting enzyme 2
ATP	Adénosine-Triphosphate
ATR1	Angiotensin II Type 1 Receptor
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
CRP	C Reactive Protein
DO	Densité Optique
EDTA	Éthylènediaminetétraacétique
ERO	Espèces Réactives de l'Oxygène
GM-CSF	Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
GSH	Glutathion
HBPM	Héparines de Bas Poids Moléculaires
Hb	Hémoglobine
IL	Interleukine
IMC	Indice de Masse Corporelle

INF $\gamma$	Interféron $\gamma$
LCR	Liquide Céphalo-Rachidien
LDH	Lactate Déshydrogénase
MDA	Malondialdéhyde
MERS-CoV	Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus
MGG	May-Grünwald Giemsa
Mét-Hb	Méthémoglobine
NADP	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NAD	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
NOX	NADPH Oxydase
ORF	Open Reading Frame
RBD	Receptor-Binding Domain
RDW	Red cell Distribution Width
RRM	Resonant Recognition Model
RT-PCR	Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
SCA	Syndrome Coronarien Aigu
SDRA	Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë
SRAA	Système Rénine-Angiotensine-Aldostérone
TBArs	Thiobarbituric Acid-reactive substances
TDM	Tomodensitométrie
TLR	Toll Like Receptors
TMPRSS2	Protéase Transmembranaire à Sérine 2
TNF $\alpha$	Tumor Necrosis Factor $\alpha$
TP	Taux de Prothrombine
TROD	Test Rapide d'Orientation Diagnostique
USI	Unité de Soins Intensifs

# INTRODUCTION

Au moment d'écrire ces lignes, la pandémie de COVID-19 a causé plus de **226 844 344** cas infectés confirmés et **4 666 334** décès dans plus de 200 pays et territoires du monde entier. En Algérie, il y a plus de **201 766** cas confirmés et **5 709** décès [1].

La maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) a été identifiée pour la première fois en décembre 2019 à Wuhan en Chine, et qualifiée par l'OMS comme une pandémie le 11 mars 2020. L'agent causale de cette maladie infectieuse est le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2). Ce dernier s'est propagé rapidement dans presque tous les pays et il a causé divers impacts économiques et sociaux, affectant globalement les systèmes de santé et la routine de la population[2, 3, 4].

Alors que la pandémie de Covid-19 se poursuit, les scientifiques font chaque jour des progrès notables pour mieux comprendre son épidémiologie, ses caractéristiques moléculaires, ses mécanismes et son évolution clinique. Cependant, sa pathogenèse est encore mal comprise.

Plusieurs études ont démontré que le virus SARS-CoV-2 pénètre dans les cellules hôtes via les récepteurs ACE2 qui sont exprimés dans divers organes humains [5]. En réponse de l'infection par le SARS-CoV-2 via ces récepteurs, le corps humain déclenche une réponse immunitaire hyperactive qui conduit à un cycle mortel, appelé tempête de cytokines [6, 7]. Les cellules immunitaires génèrent des chimiokines et des cytokines pro-inflammatoire qui attirent davantage d'autres cellules immunitaires notamment les polynucléaires neutrophiles et les monocytes [6]. Ces cellules phagocytaires actives génèrent des espèces réactives d'oxygène (ERO) pour lutter contre le virus. Cependant, ces radicaux libres peuvent induire davantage d'inflammation et par conséquent un stress oxydatif [8]. Cette réponse immunitaire hyperactive est l'un de plusieurs autres mécanismes générant un stress oxydatif au cours de COVID-19. Il est connu que ce stress provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de

l'oxydation des lipides [9]. Ces effets sont particulièrement critiques pour les globules rouges, qui peuvent devenir dysfonctionnels.

la production excessive des ERO provoque l'oxydation des acides gras polyinsaturés dans la membrane érythrocytaire, entraînant une modification profonde de la distribution et de l'organisation latérale et transversale des lipides membranaires et donc une altération dans la capacité de déformabilité des globules rouges. Il en résulte une perturbation de la diffusion de l'oxygène et du dioxyde de carbone. La réactivation des neutrophiles en réponse à la modification de la membrane des globules rouges alimente davantage ce cercle vicieux [10].

De plus, les ERO conduit à la formation de méthémoglobine en perturbant l'équilibre  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ . La méthémoglobine, constituée de fer ferrique, est incapable de se lier à l'oxygène ce qui la rend impropre au transport de ce dernier dans le sang [11].

Pour cela, l'objectif de notre travail consiste :

- Identifier les perturbations hémobiologiques et les anomalies morphologiques des cellules sanguines, en particulier les GR, au cours de l'infection par le SARS-CoV-2.
- Évaluer le taux de méthémoglobine et le statut du stress oxydatif chez les patients atteints du COVID-19. De plus, faire la corrélation avec la sévérité et l'évolution de la maladie.
- Enfin, nous voulons induire expérimentalement les perturbations de l'hémoglobine et les anomalies morphologiques observées au paravent des cellules sanguines (GR et GB) en mélangeant le plasma des malades COVID-19 avec le culot globulaire des sujets sains pour mettre en évidence l'exacerbation du stress oxydatif.

Afin de décrocher ces objectifs, notre étude s'articulera autour de deux parties : une première partie dite bibliographique, basée sur une solide documentation scientifique, consiste à décrire la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19), les propriétés virales du virus en cause (SARS-CoV-2), son épidémiologie et son physiopathologie. Ensuite, nous aborderons un rappel sur l'anatomie et la physiologie du globule rouge. Ainsi, pour conclure cette partie et en se préparant à la partie ensuite, nous évoquerons si le virus SARS-CoV-2 attaque il le sang, en particulier les globules rouges ou non. La deuxième partie dite pratique, dans laquelle nous présenterons et discuterons les principaux aboutissements de notre recherche.

## Partie Bibliographique

CHAPITRE

1

ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE DU  
GLOBULE ROUGE

**I. Structure du globule rouge**

Un globule rouge est une cellule discoïde biconcave dépourvue de noyau, de mitochondries et de ribosomes, il contient une grande quantité d'hémoglobine, origine de sa coloration [12], et un système enzymatique interne qui assure la protection de cette hémoglobine et de la membrane contre l'oxydation. L'hémoglobine est le pigment respiratoire qui transporte l'oxygène des poumons vers les tissus et est responsable de la fonction de l'hématie [13]. À l'état normal, tous les globules rouges ont sensiblement même forme, même diamètre, même coloration et toute modification de ces critères traduit un phénomène pathologique [14].

**1. La membrane érythrocytaire**

Est une enveloppe solide et souple, déformable, possédant un rôle contre les agressions physiques et chimiques. Cette enveloppe constitue une barrière sélective permettant les échanges de matière avec le plasma et surtout le transport de l'oxygène ( $O_2$ ) vers les tissus [15]. Elle représente une mosaïque fluide constituée d'une matrice lipidique disposée en une

double couche dans laquelle flottent et se déplacent des protéines globulaires [16], notamment la protéine bande 3 (ou le canal anionique) qui représente 25 % environ de la masse totale des protéines érythrocytaires. Cette protéine joue un rôle structural important en se fixant à diverses protéines du cytosquelette, elle intervient aussi dans le métabolisme érythrocytaire en interagissant avec l'enzyme glucose-6-phospho-déshydrogénase (G6PD) et joue également un rôle de signal de reconnaissance grâce aux motifs antigéniques qu'elle expose à la surface érythrocytaire [17] (**Figure 1.1**). Le rôle de la membrane entière se résume dans la rétention des molécules de l'hémoglobine (rôle protecteur) et d'échanges transmembranaires [15].

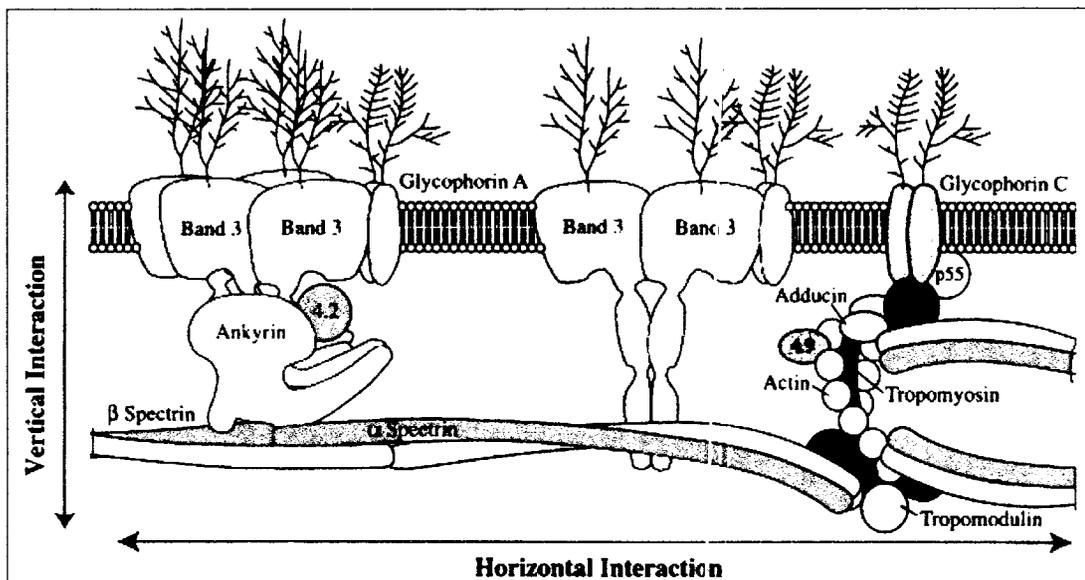


FIGURE 1.1 – Structure schématique de la membrane du globule rouge

## 2. L'hémoglobine

L'hémoglobine est un pigment respiratoire de la famille moléculaire des métalloprotéines, présent essentiellement dans le sang au sein des globules rouges. Elle a pour fonction de transporter l'oxygène ( $O_2$ ) depuis l'appareil respiratoire vers le reste de l'organisme [18].

- **La globine :**

Chaque molécule d'hémoglobine est un tétramère formé par l'association de quatre chaînes polypeptidiques identiques deux à deux : deux chaînes alpha et deux chaînes bêta. Chacune des chaînes adopte une conformation spatiale lui donnant une forme globuleuse et ménageant une « poche » superficielle dans laquelle se trouve logé l'hème [19] (**Figure 1.2**).

- **L'hème** : est une porphyrine contenant 1 atome de fer. La porphyrine, ou protoporphyrine III, comprend elle-même : 4 noyaux pyrrol à sommet azoté réunis par des ponts méthane (-CH=) et 8 chaînes latérales : méthyl, vinyl, ou acide propionique. Le fer est au centre, fixé sur 4 azotes des noyaux pyrrol et garde 2 valences libres. La molécule est plane [14] (**Figure 1.2**).

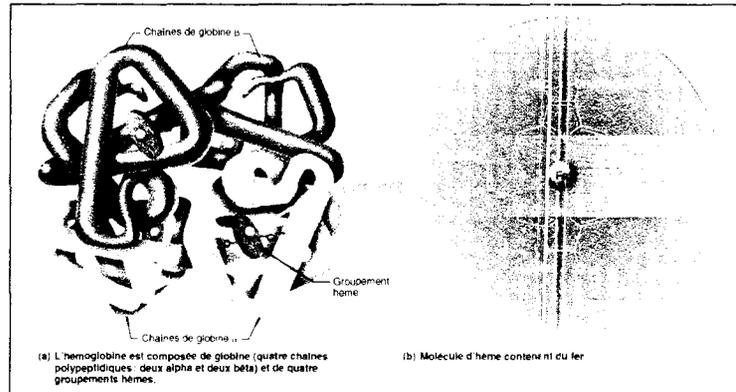


FIGURE 1.2 – Structure schématique de l'hémoglobine (a) et de l'hème (b)

- **La liaison entre la globine - l'hème** : se fait d'une part par des liaisons qu'échangent les chaînes latérales acides propioniques de l'hème et la globine, d'autre part par le fer qui dispose de deux valences libres : l'une le fixe directement à la globine sur un résidu histidine dit « proximal », l'autre intervenant sur la face opposée de la molécule d'hème fixe une molécule d'oxygène et par son intermédiaire assure un arrimage supplémentaire sur un autre résidu histidine dit « distal » de la globine [14] (**Figure 1.3**).

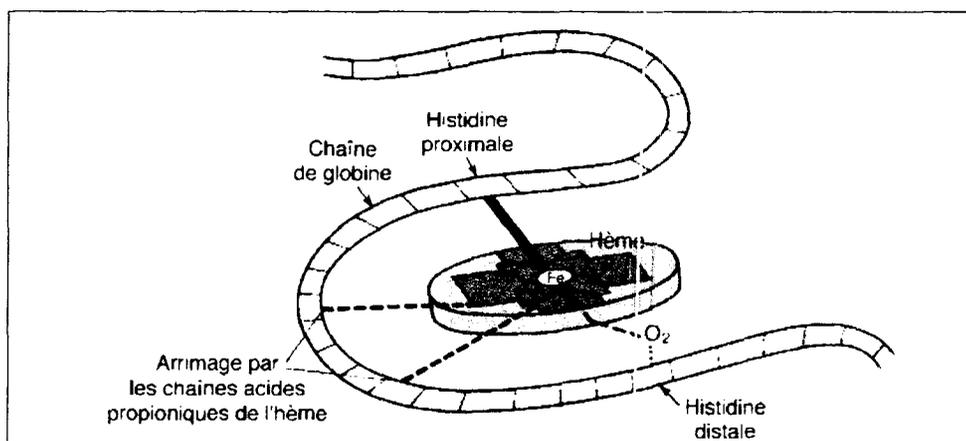


FIGURE 1.3 – Liaisons hème-globine

• **Les liaisons entre les quatre sous-unités :**

elles sont réunies entre elles par de nombreuses liaisons (**Figure 1.4**). Les liaisons  $\alpha_1\beta_2$  et  $\alpha_2\beta_1$  sont relativement peu nombreuses (contacts entre 19 acides aminés), alors que les liaisons  $\alpha_1\beta_1$  et  $\alpha_2\beta_2$  sont plus fortes (par 35 acides aminés) [14].

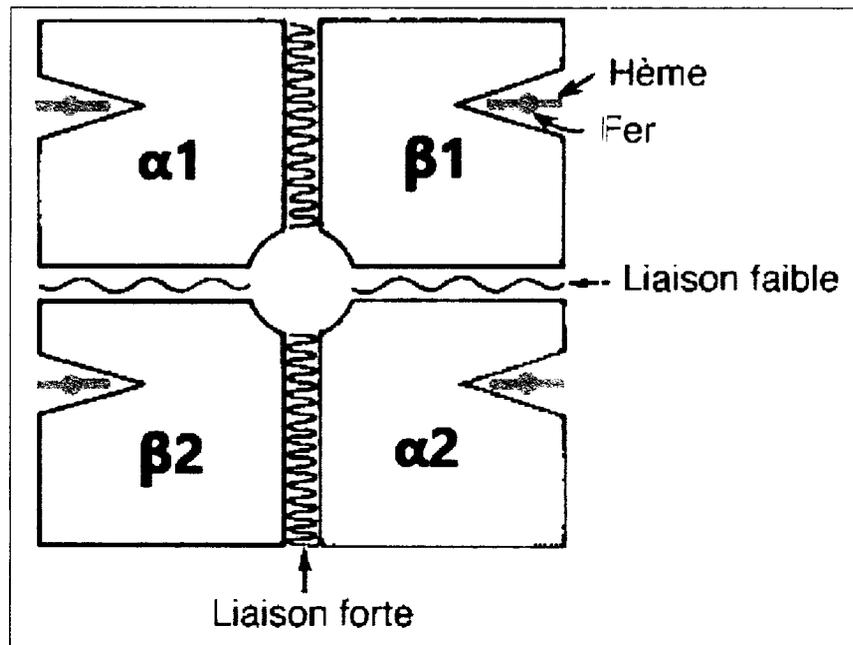


FIGURE 1.4 – Les liaisons entre les quatre sous-unités

**3. Rôles de l'hémoglobine :**

L'hémoglobine assure plusieurs fonctions dont les principaux sont :

1. Le transport de l' $O_2$  des poumons aux tissus sous forme d'**Oxyhémoglobine**. Chaque molécule d'hémoglobine peut fixer 4 molécules d' $O_2$  sur le fer de l'hème [14].

– **Notion de saturation en oxygène :**

la saturation de l'oxygène est une mesure du taux d'oxyhémoglobine (hémoglobine liée à l'oxygène) par rapport à la quantité totale d'hémoglobine présente dans le sang [20].

- **Normes :** La saturation en oxygène s'exprime en pourcentage. Pour une personne en bonne santé, elle est comprise entre 95% et 100% en fonction de l'âge.

- **Courbe de saturation de l'hémoglobine en oxygène** : Également appelée la courbe de dissociation oxygène-hémoglobine, est une courbe sigmoïde qui représente le taux de saturation de l'hémoglobine en  $O_2$  en fonction de la pression partielle de l' $O_2$  [21]. La  $PO_2$  à laquelle 50 % de l'hémoglobine est saturée (P50) est de 27 mmHg. Dans des conditions de repos normales, seulement 25 % de la capacité totale de transport d' $O_2$  est utilisée. Plusieurs facteurs métaboliques peuvent altérer l'affinité de l'hémoglobine pour l' $O_2$ , favorisant soit l'absorption d' $O_2$  soit la décharge d' $O_2$ . Les facteurs qui augmentent l'affinité à l' $O_2$  et déplaceront la courbe vers la gauche sont : un pH basique, une baisse de la température,  $PCO_2$  diminuée, diminution de la 2,3-DPG, hémoglobine anormale (Hb foetale, méthémoglobine). Tandis que les facteurs qui diminuent l'affinité de l'hémoglobine pour l' $O_2$  déplaceront ainsi la courbe vers la droite sont : un pH acide, une élévation de la  $PCO_2$ , une augmentation de la température, une augmentation de la concentration de 2,3-DPG [22].

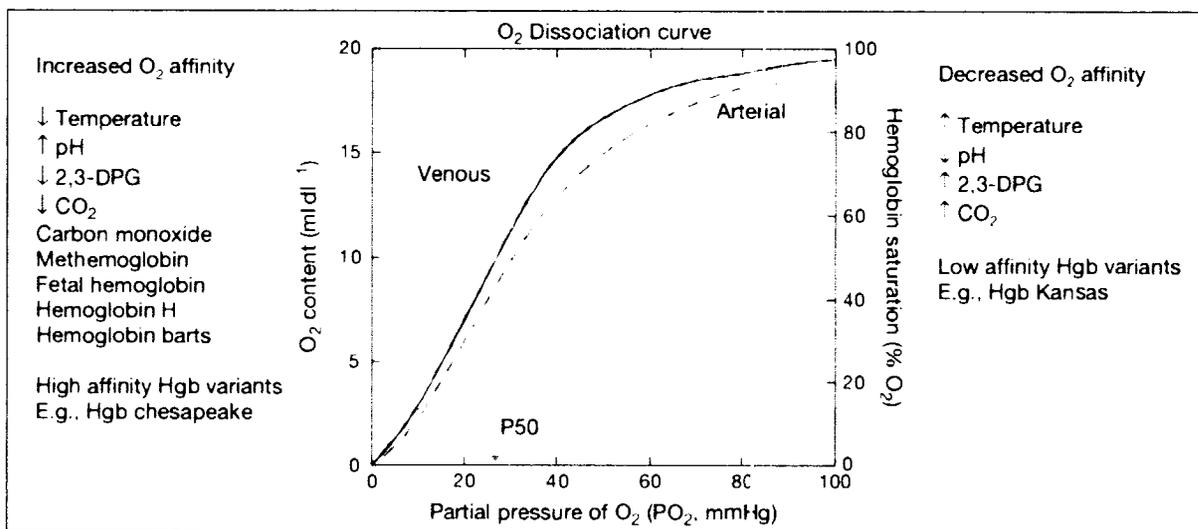


FIGURE 1.5 – Courbe de Barcroft aussi appelée courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine

- **Effet Bohr** : l'effet Bohr est une propriété de l'hémoglobine, contribuant à la libération d'oxygène au niveau du tissu métabolisant. Les tissus en cours de métabolisation produisent du dioxyde de carbone car ils sont soumis à la respiration cellulaire. Le sang absorbe ce dioxyde de carbone, ce qui augmente le pH du sang. L'augmentation du pH ou le pH acide entraîne la dissociation de l'oxyhémoglobine, libérant de l'oxygène [22].

- **Effet Haldane** : l'effet Haldane est une autre propriété de l'hémoglobine, contribuant à la libération de dioxyde de carbone dans les poumons. Le sang absorbe de l'oxygène dans les poumons pour former de l'oxyhémoglobine. Et cela diminue le pH du sang. Sous le pH alcalin, la carboxyhémoglobine se dissocie pour libérer du dioxyde de carbone dans les poumons [22].
2. Le transport du dioxyde de carbone sous forme de **Carboxyhémoglobine**. Au niveau des tissus, lorsque les hèmes ont libéré l'oxygène, chaque chaîne protéique s'unit à une molécule du dioxyde de carbone (déchet du métabolisme cellulaire rejeté dans le liquide interstitiel). La circulation sanguine entraîne la carboxyhémoglobine vers les poumons, où le dioxyde de carbone est libéré et expiré [23].
  3. L'hémoglobine assure aussi le transport du **monoxyde d'azote** qui joue un rôle significatif dans la signalisation cellulaire de certains processus physiologiques, et qui est libéré en même temps que l'oxygène après avoir été transporté sur un groupe thiol de l'apoprotéine 5 [23].

## II. Physiologie du globule rouge

Pour assurer sa fonction et maintenir son existence le GR doit constamment lutter contre deux dangers principaux : contre l'oxydation de ses constituants (notamment la membrane, le fer et la globine) grâce à une série de systèmes réducteurs, et contre l'hyperhydratation grâce au mécanisme des « pompes à sodium » qui lui permet de chasser vers l'extérieur l'ion  $Na^+$ . Les coenzymes NADH et NADPH et l'énergie nécessaire à ces fonctions provient entièrement de la dégradation du glucose [14].

Le glucose transformé par l'hexokinase en glucose-6-phosphate est catabolisé par deux voies, la voie principale dite d'Embden-Meyerhof (90 %) anaérobie, et la voie accessoire ou shunt des pentoses (10 %) [14].

1. Voie de Embden-Meyerhoff (glycolyse anaérobie) :

c'est la voie principale qui permet dans une première phase dite de consommation d'ATP, la dégradation du glucose ( $C_6$ ) en deux trioses phosphates ( $C_3$ ). Une seconde phase de réactions productrices d'ATP aboutit à la formation d'acide pyruvique éliminé sous forme d'acide lactique. Cette seconde partie de la voie principale permet la régénération de deux molécules d'ATP (à partir d'ADP) et de deux molécules de NADH réduit. Tout au long de cette chaîne de réactions interviennent une série d'enzymes qui peuvent être déficitaires à l'état pathologique. C'est notamment le cas de la pyruvate kinase. L'absence dans les GR des mitochondries et des enzymes du cycle de Krebs limite les réactions qui, dans les autres cellules, se poursuivent par le cycle de Krebs avec un rendement énergétique très supérieur [14] (Figure 1.6).

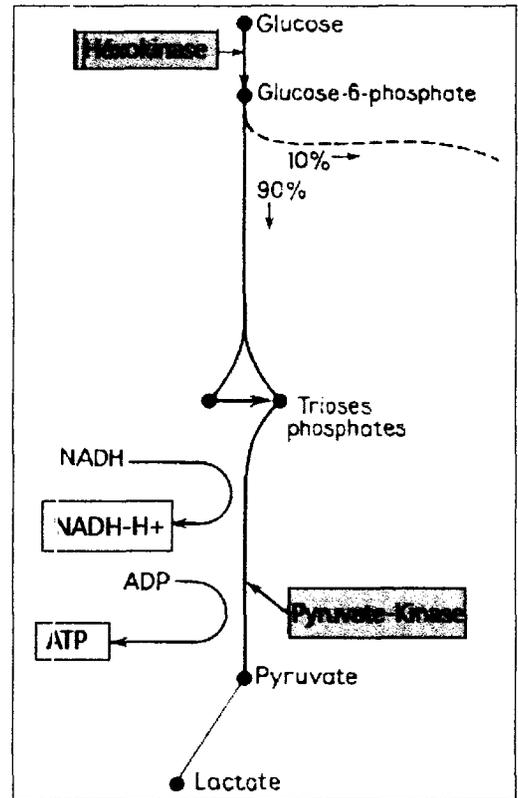


FIGURE 1.6 - Voie principale de la glycolyse

• Cycle du 2,3-Diphosphoglycérate (shunt de Rappoport-Luebering):

greffé sur la voie anaérobie (entre le 1,3-Diphosphoglycerate et le 3-PhosphoGlycerate), il régule la glycolyse anaérobie en maintenant une production stable d'ATP par les érythrocyte et stabilise la forme désoxygénée de l'hémoglobine en diminuant son affinité pour l' $O_2$  [14].

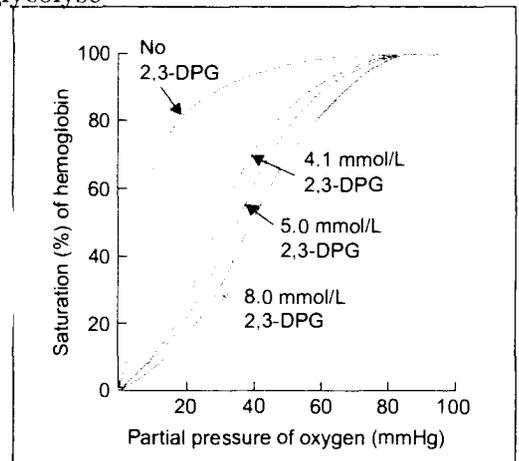


FIGURE 2.7 - Effet du 2,3-bisphosphoglycérate (2,3-DPG) sur la courbe de saturation en  $O_2$  l'Hb

## 2. Voie des pentoses phosphates (glycolyse aérobie)

cette voie accessoire ne dégrade que 10 % du glucose qui est transformé en un triose phosphate par une série de réactions qui font intervenir des sucres en  $C_5$  (pentoses). Son importance est cependant très grande car elle est la seule source de régénération du NADPH réduit. Parmi les enzymes de cette voie, il faut se rappeler le rôle de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PD) à son origine [14].

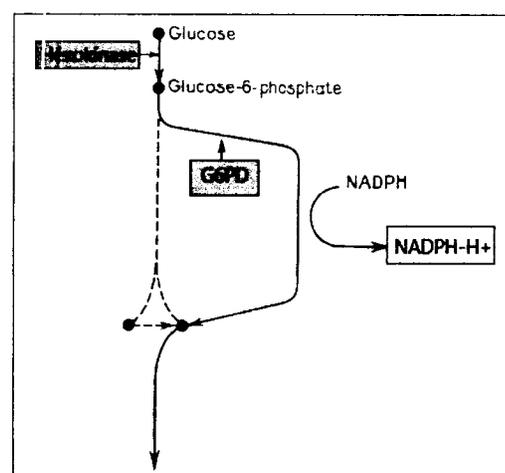


FIGURE 2.8 - Schéma de la voie des pentoses phosphate

## III. Interactions intra-érythrocytaires

Dans les globules rouges, le cytosol, le cytosquelette et la membrane plasmique sont extrêmement et étroitement liés pour créer une structure fondamentale et complexe. Ces interactions peuvent être observées à plusieurs niveaux :

### 1. Interactions membrane-membrane

Les membranes des globules rouges sont composées d'un mélange complexe de différents types d'espèces de phospholipides qui diffèrent par leur groupe de tête et leurs chaînes latérales. Tout déséquilibre des lipides membranaires de GR conduit à la perte et à la perturbation de l'asymétrie des phospholipides membranaires qui est essentielle pour le bon fonctionnement des globules rouges [24].

Les glycophorines est un groupe de protéines transmembranaires qui jouent un rôle important dans la régulation des propriétés mécaniques des globules rouges. Ils constituent le type intégral de protéines de la membrane des globules rouges le plus abondant. La glycophorine A est la principale syaloglycoprotéine responsable de la charge de surface négative nette de la membrane cellulaire [24].

## 2. Interactions de cytosquelette

La déformabilité du GR est fonction de la stabilité verticale de la membrane des globules rouges et du cytosquelette. Le composant principal du cytosquelette des globules rouges est la spectrine (250 000 molécules par cellule). Ce réseau de spectrine est ancré verticalement à la membrane cellulaire par des macrocomplexes ankyrine-bande 3 à intervalles répétés.

En plus de son rôle d'ancrage membrane-cytosquelette, le macrocomplexe ankyrine-bande 3 est également considéré comme un « métabolon », impliqué à la fois dans les échanges gazeux et le métabolisme. Chaque cluster ankyrine-bande 3 est composé de quatre molécules de la bande 3 - une glycoprotéine massive (100 kD) avec deux domaines fonctionnellement distincts, un long domaine cytoplasmique N-terminal et un domaine transmembranaire massif. Le domaine cytoplasmique N-terminal interagit avec le cytosquelette (ankyrine et protéine 4.2), ainsi qu'avec les enzymes glycolytiques (phosphofructokinase, glycéraldéhyde 3-phosphate, la déshydrogénase (G3PDH) et l'aldolase), la désoxyhémoglobine, la Mét-Hb, les hémichromes et la protéine tyrosine kinase. Ce dernier modifie des résidus tyrosine spécifiques, qui augmentent l'interaction entre la bande 3 et le cytosquelette. Le domaine cytoplasmique C-terminal est un transporteur d'échange d'anions (AE1 ou SLC4A1), qui est responsable de l'échange de Cl et de HCO<sub>3</sub> (effet Hamburger) nécessaire aux échanges gazeux, au pH intracellulaire et à l'homéostasie de l'eau [24].

## 3. Interactions membrane-cytosol

Parmi les interactions membrane-cytosol on trouve :

1. **Interactions avec l'hémoglobine** : La liaison réversible des protéines avec les composants membranaires et le cytosquelette est l'un des mécanismes de contrôle du métabolisme cellulaire. Il s'agit d'un mécanisme crucial pour la régulation du métabolisme dans les cellules dépourvues de noyaux, les érythrocytes de mammifères, dans lesquels il est réalisé via la modification de l'hémoglobine à l'état lié à la membrane. L'hémoglobine peut interagir avec la membrane dans différents ligands et états redox. Ainsi, cette protéine peut fonctionner comme un capteur de conditions redox et d'oxygène. En fonction des conditions d'oxygène, la désoxyhémoglobine modifie le métabolisme énergétique, la morphologie et la déformabilité des érythrocytes, ainsi que la libération des régulateurs du tonus vasculaire, NO et ATP. Ceci est réalisé via l'interaction avec la principale protéine intégrale de la membrane érythrocytaire, la protéine bande 3 [25].

2. **Interactions avec l'ATP** : Puisque ils sont dépourvu d'organites, en particulier les mitochondries, les globules rouges dépend de la glycolyse pour la production d'ATP et d'énergie. L'ATP générée par la glycolyse assure le fonctionnement de la pompe à  $Na^+$  au niveau membranaire, une enzyme globulaire qui utilise l'énergie issue de la dégradation de l'ATP pour transporter des ions  $K^+$  et  $Na^+$  contre leur gradient de concentration [14, 26]. L'ATP joue également un rôle important dans le maintien de la forme biconcave des GR et la stabilité des lipides de la membrane. Un déficit en ATP entraînera donc des altérations de la membrane globulaire et une tendance à l'hyperhydratation avec formation de sphérocytes, puis destruction de la cellule [14].

#### 4. Interaction cytosol-cytosol

1. **Interaction avec les produits du système d'oxydoréduction** : Pour assurer ses fonctions et conserver son intégrité, le globule rouge possède un système d'oxydoréduction qui lui permet de protéger ses constituants contre l'oxydation notamment l'hémoglobine. Le glutathion réductase est une oxydoréductase qui permet de réduire le disulfure de glutathion (GSSG) en glutathion (GSH) à l'aide de NADPH provenant essentiellement de la voie des pentoses phosphates afin de régénérer le glutathion, molécule essentielle à la résistance contre le stress oxydant et à la préservation du pH intracellulaire

Le système d'oxydoréduction comprend aussi un système spécialement dédié pour la réduction de la méthémoglobine. Ce système repose essentiellement sur la cytochrome  $b_5$  réductase, également appelée méthémoglobine réductase à NADH ou la Diaphorase-NADH qui, en présence de sont coenzymes NADH, constitue la voie principale de réduction de méthémoglobine. Il est capable de réduire le cation  $Fe^{3+}$  de la méthémoglobine en cation  $Fe^{2+}$  pour redonner de l'hémoglobine fonctionnelle. La NADPH méthémoglobine réductase, elle est la voie accessoire nécessite pour être active un cofacteur exogène tel que le bleu de méthylène. Elle n'est donc utile que lors de méthémoglobinémies pathologiques, après administration intraveineuse de bleu de méthylène [14].

2. **Interaction avec le 2,3-Diphosphoglycérate** : le 2,3 DPG est un important intermédiaire métabolique de la glycolyse. Il intervient dans la régulation du transport de l'oxygène dans le sang, en stabilisant la forme désoxy de l'hémoglobine. Cette stabilisation diminue l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, permettant sa libération à proximité des tissus cibles. C'est donc un régulateur du transport d'oxygène dans le sang, qui rend ce dernier globalement plus efficace [27].

## CHAPITRE

## 2

## COVID-19

## I. Propriétés virales

### 1. Structure

Le SARS-CoV-2 est un virus à ARN enveloppé monocaténaire, de sens positif, non segmenté, d'une taille d'environ 29,9 *kB* et d'un diamètre de 50 à 200 *nm*. Structuellement, il possède une enveloppe lipidique à double couche, comprenant [11] :

- **Une glycoprotéine de pointe (S)** : possédant un domaine de liaison au récepteur (RBD) pour l'interaction avec les récepteurs de la cellule hôte.
- **Une protéine d'enveloppe (E)** : ils ont rapporté qu'elle joue un rôle dans la pathogenèse car elle interagit avec la protéine liée à la jonction serrée, nommée ; Protéine associée à *Caenorhabditis elegans* Lin-7 protein 1 (PALS1).
- **Une glycoprotéine membranaire (M)** : responsable de l'assemblage des particules virales.
- **Une protéine de nucléocapside (N)** : une phosphoprotéine, emballe le génome viral dans un complexe ribonucléoprotéique et joue un rôle dans la réplication du génome viral et la voie de signalisation cellulaire .

## 2. Génome

Le génome des CoV comporte un nombre variable de cadres de lecture ouverts (ORF). Les deux tiers de l'ARN viral sont situés principalement dans le premier ORF (ORF1a/b), traduit deux polyprotéines, pp1a et pp1b, et code pour 16 protéines non structurales (NSP), alors que les ORF restants codent pour des protéines de structure et des protéines accessoires. Le reste du génome du virus code pour quatre protéines essentielles de structure, dont la glycoprotéine (S), la protéine de l'enveloppe (E), la protéine matricielle (M) et la protéine nucléocapside (N), ainsi que plusieurs protéines accessoires, qui interfèrent avec la réponse immunitaire de l'hôte.

L'étude de Wu et al. a montré une similitude génomique et phylogénétique avec le Sars-CoV, en particulier dans le gène de la glycoprotéine S. Zhang et al. ont analysé le génotype de différents patients atteints du Covid-19 et ils ont constaté des modifications rares et spontanées du génome viral. L'étude de Tang et al. a analysé 103 génomes de patients infectés par le Covid-19 et a permis d'identifier deux souches de Sar-CoV-2 : la souche L et la souche S. La souche L est plus agressive et contagieuse [28].

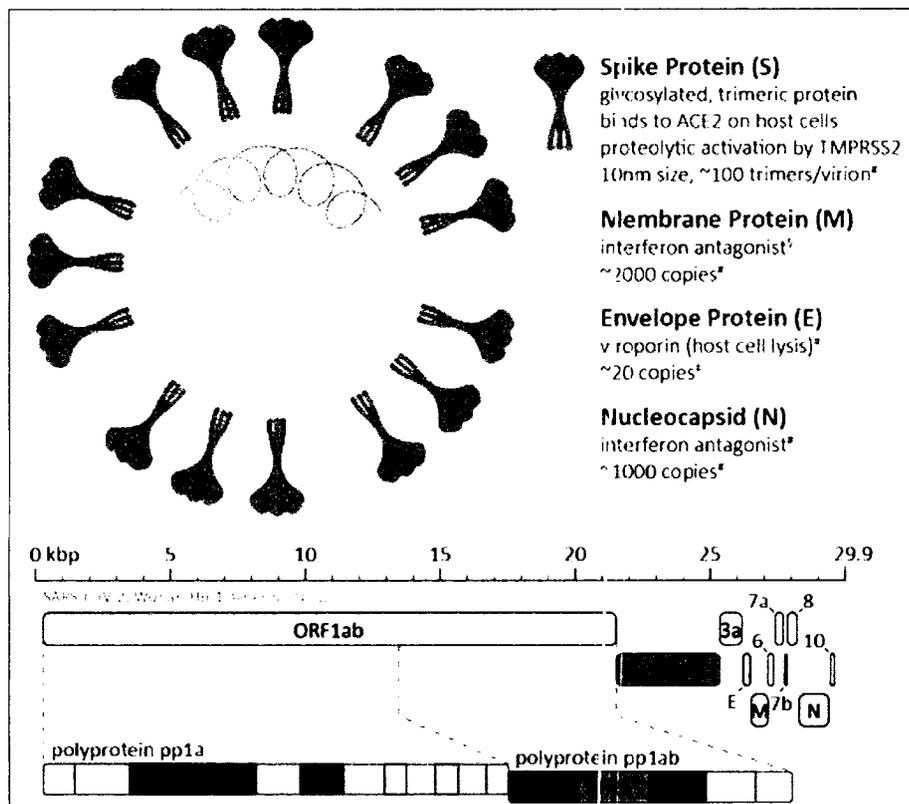


FIGURE 2.1 – Structure du virion et génome du SARS-CoV-2

## II. Épidémiologie

### 1. Origine et dynamique du SARS-CoV-2

On soupçonne que le SARS-CoV-2 provient de chauves-souris. Il n'est pas clair si le virus est transmis à l'homme directement par les chauves-souris ou par l'intermédiaire d'hôtes intermédiaires tels que les chats, les pangolins, les furets, les visons ou d'autres animaux. On a suggéré que l'infection par le SARS-CoV-2 chez les chats, les chiens, les tigres et les lions provienne de porteurs humains. La transmission du SARS-CoV-2 de l'homme au vison et du vison à l'homme a été détectée aux Pays-Bas et au Danemark. Toutefois, la transmission interhumaine demeure la principale voie de transmission pendant la pandémie actuelle [11].

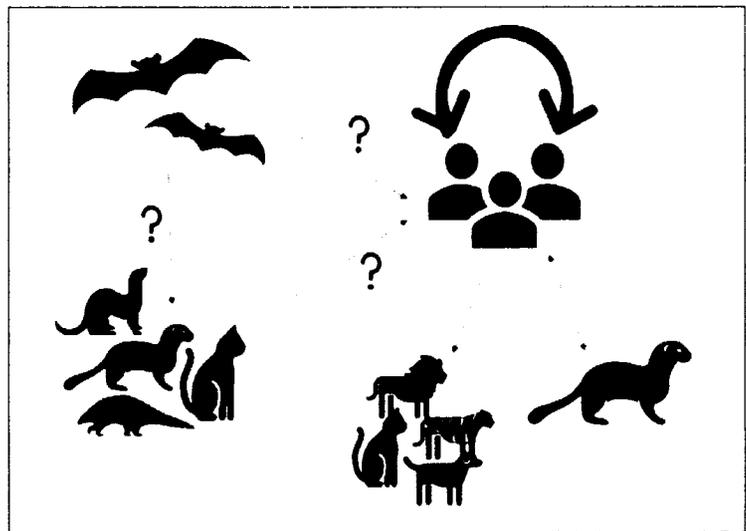


FIGURE 2.2 – Origine et dynamique du SARS-CoV-2

### 2. Transmission

Le virus peut pénétrer dans l'organisme par contact avec les yeux, nez, bouche avec des mains contaminées, par inhalation de gouttelettes/sécrétions d'un malade, ou en cas de contact avec des surfaces infectées. Jusqu'à présent, la transmission verticale n'a pas été confirmée, cependant plusieurs cas de transmission postnatale ont été rapportés. Par ailleurs, l'isolement d'ARN viral dans le sang et les selles a évoqué la possibilité d'une contamination sanguine ou oro-fécale qui n'a toutefois pas été démontrée à ce jour. La contamination par la muqueuse oculaire pourrait être possible [11].

### 3. Contagiosité et période d'incubation

Le taux de reproduction ( $R_0$ ) est un indicateur qui apprécie le potentiel de contagiosité d'un agent infectieux. C'est le nombre moyen de sujets auxquels un malade risque de transmettre la maladie dans une population non immunisée contre le virus. Si le  $R_0$  est supérieur à 1, alors la maladie tend à s'étendre d'elle-même en l'absence d'action [11].

– Quand est-on contagieux ?

Il se déroule en moyenne 5 à 8 jours entre l'infection par le virus et la possibilité de le transmettre à un tiers, que l'on développe des symptômes ou non. Le risque de transmission est maximal à l'apparition de ces symptômes (lorsqu'on en a), mais il débute en moyenne 2 à 3 jours avant. Ce risque diminue ensuite progressivement à partir du 7<sup>ème</sup> jour suivant l'apparition des symptômes. Il devient limité au-delà de 10 jours et exceptionnel après 14 jours. Attention, ces durées ne sont que des moyennes et peuvent varier selon la lignée du virus considéré : globalement, plus les symptômes sont sévères et persistent, plus la possibilité de transmettre le virus se prolonge [29].

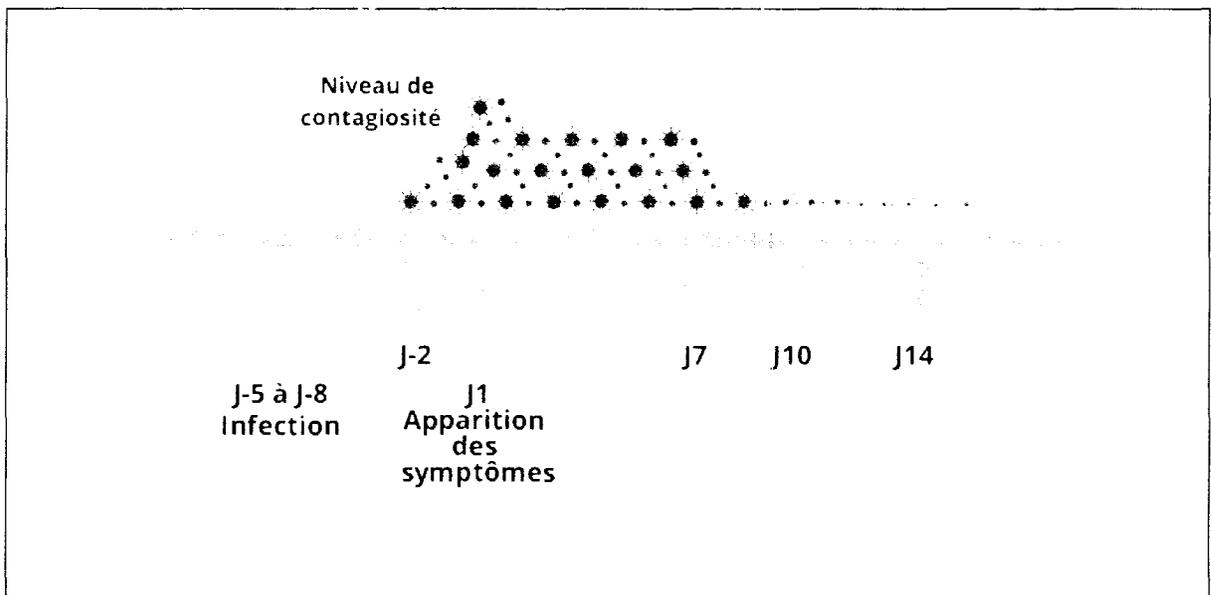


FIGURE 2.3 – Période de Contagiosité du SARS-COV2

La période d'incubation varie de 2 à 14 jours (médiane 5 jours). Or, l'étude de Guan et al., réalisée sur un large échantillon, a suggéré une moyenne de 3 jours, avec une extrême arrivant à 24 jours [11].

#### 4. Facteurs de risque

- Qui sont les personnes à risque de développer une forme grave de la maladie ?

L'analyse des données épidémiologiques montre que l'âge (plus de 65 ans) et le sexe (masculin) favorisent le développement d'une forme grave de la maladie. Elle montre aussi que les personnes souffrant de certaines pathologies ont plus de risque de développer une forme grave de Covid-19 que les autres. Il s'agit principalement de : diabète (de type 1 et de type 2), obésité, cancers, maladie respiratoire, maladies cardio-vasculaire, grossesse.

### III. Physiopathologie

La principale voie d'entrée du SRAS-CoV-2 passe par les voies respiratoires supérieures ou les muqueuses faciales.

#### 1. Cycle de réplication du SARS-CoV-2

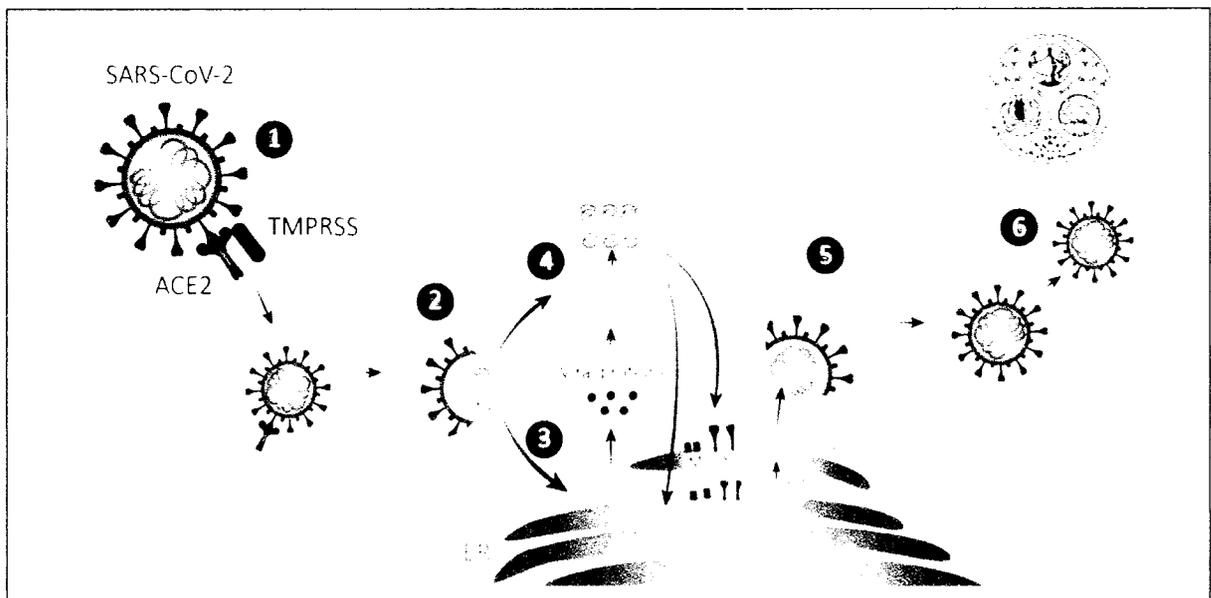


FIGURE 2.4 – Le cycle viral du SARS-CoV-2

1. Grâce aux protéine Spike présentes à sa surface, le SARS-CoV-2 se fixe au récepteur ACE2 exprimé à la surface des cellules qui tapissent nos voies respiratoires. Une autre protéine cellulaire (TMPRSS2) permet ensuite au virus de pénétrer dans la cellule.

2. Le virus est alors internalisé par la cellule et y libère son contenu, en particulier son matériel génétique.
3. L'ARN viral est immédiatement traduit par la machinerie cellulaire en une longue chaîne protéique,
4. Cette longue chaîne protéique va être ensuite découpée par protéolyse pour former des protéines virales nécessaires à la suite des opérations.
5. Elles vont en particulier permettre la synthèse de nouvelles copies de génome du virus et d'ARN messager permettant eux-mêmes la synthèse des protéines des structure du virus.
6. Une fois tous ces composants synthétisés, ils s'auto-assemblent pour former des nouveaux virions, qui s'échappent de la cellule pour aller infecter les voisins [29]

Chez l'homme, la fonction physiologique principale de l'ACE2 est de convertir les peptides angiotensine I et II en angiotensine 1-9 et angiotensine 1-7, qui assurent des fonctions cardiovasculaires protectrices grâce à des mécanismes qui incluent la vasodilatation et le contrôle de la perméabilité endothéliale. L'infection par le SRAS-CoV-2 entraîne une réduction des taux d'ACE2 et une perturbation du système rénine angiotensine aldostérone (SRAA), qui amplifie la signalisation par la voie de l'angiotensine II, entraînant un dysfonctionnement inflammatoire et circulatoire potentiellement grave [30].

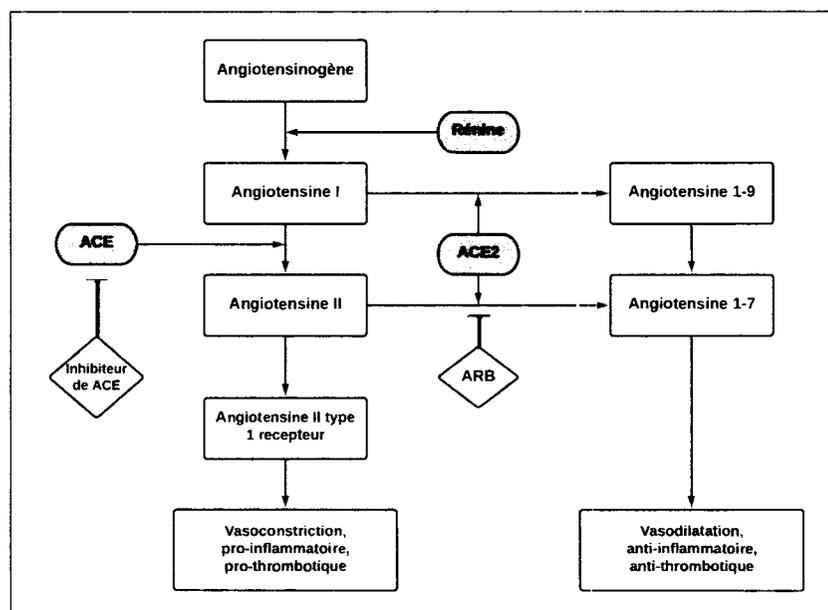


FIGURE 2.5 – Rôle de l'ECA et de l'ACE2 dans la modulation de la pression artérielle dans le système rénine-angiotensine (RAS)

## 2. Rôle paradoxal de l'ACE2

L'ACE2 étant le principal récepteur cellulaire du SARS-CoV-2, il a été suggéré qu'une forte expression d'ACE2 conduisait à une susceptibilité accrue à l'infection. Ceci pourrait expliquer que les patients diabétiques ou atteints de cancer, qui expriment plus fortement ACE2, soient à risque de formes graves.

Toutefois, la distribution anatomique d'ACE2 n'est pas strictement corrélée à la symptomatologie provoquée par l'infection par le SARS-CoV-2. Tandis qu'ACE2 est fortement exprimé dans le tube digestif, les reins, le cœur, la vésicule biliaire, les glandes séminales et les testicules, la COVID-19 provoque des atteintes respiratoires, neurologiques, digestives, cardiologiques, hépatiques, oculaires, et/ou cutanées. De plus, l'ARN du SARS-CoV-2 était fortement détecté dans les poumons, et à moindre mesure dans le foie, le rein ou le cœur dans une série autopsique de douze patients. Même si dans cette étude, l'absence de discrimination entre l'ARN génomique et sous-génomique ne permet pas de confirmer une réplication virale active dans ces organes, la différence entre la répartition d'ACE2 tissulaire et les atteintes organiques du SARS-CoV-2 fait évoquer la possibilité d'une invasion cellulaire indépendante d'ACE2.

Paradoxalement, si l'expression tissulaire d'ACE2 permet la pénétration du virus dans la cellule, la forme soluble d'ACE2 pourrait être un facteur protecteur du COVID-19. L'activité d'ACE2 circulante est effectivement faible chez les patients en surpoids ou hypertendus alors qu'elle est plus forte chez les enfants et qu'elle est corrélée positivement à l'expression d'œstrogènes. Ceci explique, pour certains auteurs, la relative protection des enfants par rapport aux adultes et des femmes par rapport aux hommes dans la COVID-19. Cette hypothèse est en accord avec les travaux qui démontraient le rôle protecteur d'ACE2 dans les lésions pulmonaires [31].

## IV. Manifestations cliniques

Les poumons sont l'une des principales cibles du SARS-CoV-2. Cependant, le SARS-CoV-2 endommage également de nombreux autres systèmes d'organes, tels que le cœur, les reins, le foie et le cerveau. Comprendre que le COVID-19 est une maladie multisystémique est essentiel à sa prise en charge clinique. Le spectre de la présentation clinique du COVID-19 est large, puisqu'il va de l'absence de symptômes ou de symptômes minimes jusqu'à la pneumonie virale sévère (SDRA) avec insuffisance respiratoire, dysfonctionnement multisystémique, sepsis et décès. Jusqu'à 40 à 45 % des personnes infectées sont asymptomatiques lorsqu'elles font l'objet d'un dépistage du virus, et beaucoup restent asymptomatiques, mais

elles excrètent tout de même le virus par les voies aériennes supérieures et peuvent transmettre le virus à d'autres personnes. Les symptômes fréquents comprennent les suivants : fièvre, frissons, fatigue, toux sèche, anorexie, myalgie, diarrhée et expectorations. Une perte de l'odorat (anosmie) et du goût (agueusie) est également fréquemment rapportée. Des maux de gorge, une congestion nasale et une rhinorrhée sont moins fréquents. Certaines personnes restent afebriles. D'autres présentent des symptômes légers pendant 8 à 9 jours, jusqu'à l'apparition soudaine ou l'aggravation d'un essoufflement (dyspnée) qui les pousse à se rendre aux urgences. Une assistance ventilatoire peut être nécessaire peu après l'apparition de la dyspnée [32].

## V. Démarche diagnostic

Le 03 août 2021 le ministère de la santé en Algérie a publié une instruction (instruction n°20/ DGSSRH du 03 août 2021) qui vient à actualiser le point concernant la démarche diagnostique et la conduite thérapeutique devant un cas COVID-19, et cela en tenant compte de l'avancée des connaissances scientifiques et de l'analyse de l'évolution de la situation épidémiologique [33].

### 1. Diagnostic d'orientation

Cette démarche diagnostique repose sur un fuseau d'argument basés sur des :

- **Critères épidémiologiques** : il est nécessaire de rechercher systématiquement la notion de contact avec patients COVID-19 ;
- **Critères cliniques** : associant fièvre, toux, dyspnée, asthénie, myalgies, céphalées, troubles digestifs, anosmie, agueusie, sachant que cette symptomatologie peut être variable d'un patient à l'autre ;
- **Critères biologiques** : se traduisant essentiellement par une leucopénie et/ou une lymphopénie ;
- **Critère radiologiques** : la TDM thoracique n'est demandée qu'en cas de signes d'appels respiratoires majeurs (désaturation sévère en oxygène par exemple).

### 2. Diagnostic de certitude

La démarche diagnostique de certitude est apporté par la positivité :

- De la RT-PCR qui reste l'examen de référence ;

- Du test antigénique réalisé avant le 7<sup>ème</sup> jour de symptomatologie.

**N.B :** Un test antigénique négatif en présence d'une forte suspicion de COVID-19 (clinique et/ou épidémiologique) doit être suivi d'une PCR.

## VI. Prise en charge thérapeutique et prévention

Suivant la démarche thérapeutique annoncée par le ministère de la santé en Algérie à travers l'instruction n°20/DGSSRH du 03 août 2021 :

### 1. Démarche thérapeutique

#### Association thérapeutique spécifique :

- *Hydroxychloroquine* : Elle est utilisée exclusivement en milieu hospitalier en l'absence de contre-indication.
- *Azythromycine*

**N.B :** Cette association est indiquée dans les 7 premiers jours de la maladie.

**Concernat le traitement antibiotique :** l'antibiothérapie n'est pas systématique, elle n'est indiquée qu'en présence d'élément en faveur d'une surinfection bactérienne essentiellement respiratoire.

#### Antibiothérapie recommandée :

*Amoxicilline+Acide Clavulanique*, ou *Ciprofloxacine*

**N.B :** En cas d'allergie aux bêta-Lactamines : macrolides ou fluoroquinolone.

#### Antibiothérapie injectable : pour les formes graves en milieu hospitalier :

*Céfotaxime* , ou *Ciprofloxacine*

#### Traitement anticoagulant :

**Dose préventives :** en cas de Surpoids ou obèses, immobilités, cancer, D-dimères supérieures ou égale à 500, ajusté à l'âge du patient.

**Doses curatives :** En milieu hospitalier, prescrire une HBPM, sous surveillance clinique et le suivi de l'évolution du taux de D-dimères, dans les situations suivantes :

- D-dimères supérieures à 3000
- Patient au stade sévère avec lésions pulmonaires étendues et signes d'insuffisance respiratoire
- Risque thrombo-embolique élevé.

**Traitement cortisonique :** Dans le cadre de la prise en charge thérapeutique des personnes atteintes de COVID-19, des formes graves ou critiques, il est recommandé de prescrire la corticothérapie (**Déxaméthasone**) courte durée (3 à 10 jours) à partir du 6<sup>ème</sup> jour de l'apparition des symptômes

**Traitement symptomatique :**

- La fièvre et la douleur : antipyrétique, antalgique type paracétamol
- La toux : corticoïdes inhalés et/ou Salbutamol
- Apport hydro électrolytiques.

**L'Oxygénothérapie :** L'oxygène ne doit être utilisé qu'en cas de pneumopathie dès que la  $SpO_2$  est inférieure à 92 % avec pour objectif d'obtenir une  $SpO_2$  entre 92 % et 95 %

**Traitement adjuvant :** Vitamine C, Zinc, vitamine D, Magnésium

## 2. Prévention

- **Confinement :** dans tous les cas le confinement du patient reste rigoureux pendant la durée du traitement soit jours avec strict respect des mesures de prévention.
- **Vaccination :** c'est l'un des piliers de lutte contre la pandémie due au coronavirus. Plusieurs vaccins ont été développés, testés et mis sur le marché en moins d'un an. Si tous les vaccins stimulent le système immunitaire de façon à induire une protection spécifique contre le virus de la COVID, des différences existent quant à la technique utilisée [34] :
  - Vaccins à ARN messenger (Moderna),
  - Vaccins à vecteur viral non répliquatif (AstraZeneca),
  - Vaccins à virus inactivé (CoronaVac)
  - Vaccins à virus vivant atténué

CHAPITRE

3

ANOMALIES DES GLOBULES ROUGES  
AU COURS DE COVID-19

**I. Le SARS-CoV-2 s'attaque t'il le sang ?**

Bien que plusieurs études aient été menées sur la physiopathologie du COVID-19, il existe encore de nombreuses inquiétudes à ce sujet.

Il a été prouvé que le SARS-CoV-2 attaque en priorité les cellules du système respiratoire, jusqu'au plus profond des poumons, et le syndrome de détresse respiratoire aigu qui emporte bien des malades en est la preuve. Cependant, le nouveau coronavirus ne se limite pas à ces organes, et l'on sait désormais qu'il touche bien d'autres endroits de l'organisme comme le cerveau et les nerfs, le foie, les reins, le système digestif, etc. Le cœur et les vaisseaux sanguins ne sont pas épargnés, et même le sang semble perturbé par le SARS-CoV-2 car il a été démontré qu'au cours de la progression de la maladie, les patients atteints de COVID-19 présentent plusieurs perturbations de paramètres hématologiques [35], notamment [36] :

- Des taux d'hémoglobine réduits indiquant la présence d'anémie
- Une diminution de nombre des GR
- Une diminution des lymphocytes totaux

- Un rapport neutrophile lymphocytaire élevé
- Des taux pathologiquement accrus de ferritine
- Une élévation importante des produits de dégradation de la fibrine/fibrinogène (D-dimères) caractérisant une coagulopathie intravasculaire disséminée
- Un temps de Quick prolongé

Pour cette raison, de nombreuses recherches et études ont été menées pour découvrir les causes et les mécanismes qui ont conduit à ces perturbations.

## II. Globules rouges et COVID-19

Principalement, parce qu'ils transportent l'oxygène, les GR peuvent jouer un rôle dans la gravité de l'hypoxiémie chez les patients COVID-19. À cet égard, une question persistante porte sur le mécanisme dont les GR sont infectés par le SARS-CoV-2 [37].

L'étude de Wentao Ni et al. a démontré que le virus SARS-CoV-2 pénètre dans les cellules hôtes via les récepteurs ACE2 [38]. Il convient de noter que la protéomique a identifié les récepteurs ACE2 à la surface des GR. Cela suggère que les GR, qui ne peuvent pas supporter la réplication virale par manque d'organites, peuvent théoriquement être envahis par le virus [39, 40]. Ceci peut être dû à la possibilité que le virus traverse la membrane alvéolaire, trouvant son chemin pour infecter les globules rouges, ce qui provoque simultanément une baisse rapide des niveaux d' $O_2$  dans le sang [37, 39].

Une autre étude récente de Cosic et al., utilisant leur propre modèle de reconnaissance biophysique par résonance (RRM), apporte de nouvelles preuves sur la façon dont le SRAS-CoV-2 peut infecter les GR, permettant de mieux comprendre la physiopathologie du COVID-19 [37, 41]. Selon leurs découvertes, il pourrait y avoir une interaction probable entre la protéine de surface Band 3 et la protéine de pointe  $S_1$  dans le virus SARS-CoV-2, représentant une entrée possible du SARS-CoV-2 dans les GR. Cette hypothèse est d'une importance primordiale car l'intégrité de la protéine Band 3 est obligatoire pour la physiologie des GR. Des altérations de ce mécanisme peuvent entraîner des dommages importants aux fonctions des GR, telles que l'apport d' $O_2$  [37, 42]. Dans ce cas, une hypoxie devrait s'ensuivre (telle que détectée dans les cas graves de COVID-19) en raison de cette interaction, qui peut diminuer le transport d' $O_2$  à travers les GR [37].

Les GR ont longtemps été considérés comme de puissants piègeurs du NO dérivé des cellules endothéliales et des leucocytes, participant au métabolisme systémique du NO principalement en limitant sa biodisponibilité [43, 44]. Le NO se fixe sur l'hémoglobine sur le thiol du résidu Cys  $\beta 93$ , à proximité immédiate du site de fixation de l'hème, et en for-

mant la S-nitrosohémoglobine (SNOHb) [45, 46, 47]. En conditions d'hypoxie, le NO dissocié sortirait du GR et serait transféré au glutathion, permettant sa diffusion et son action vasodilatatrice [45, 48]. Les GR traversant la microcirculation détectent les conditions d'oxygène des tissus via leur degré de désoxygénation et associent cette information à la libération de composés vasodilatateurs, notamment l'ATP et le NO, pour améliorer le flux sanguin vers les tissus hypoxiques [43, 49]. Le NO est un radical libre et a un rôle physiopathologique critique dans les maladies infectieuses. Ces constatations peuvent expliquer les résultats obtenus par Mortaz et ses collègues. Leur étude a démontré des niveaux accrus de NO dans les GR de sujets COVID-19 [43]. En plus, dans l'étude d'Alamdari et al. le nitrite, le nitrate (les métabolites du NO), la méthémoglobine (met-Hb) et l'équilibre prooxydant-antioxydant ont été estimés comme des facteurs impliqués dans l'aggravation de l'hypoxie chez les patients en soins intensifs [50].

D'autre part, il a été prouvé que de nombreuses infections virales respiratoires, y compris COVID-19, provoquent la mort des cellules infectées, l'activation de la réponse immunitaire innée et la sécrétion de cytokines inflammatoires. Tous ces processus sont associés au développement de ce qu'on appelle un stress oxydant. Ce dernier contribue de manière importante à la pathogenèse de ces infections virales. Il a été proposé récemment comme un acteur clé du COVID-19 [51, 52, 53, 54]. Il provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides [55]. Ces effets sont particulièrement critiques pour les globules rouges, qui peuvent devenir dysfonctionnels [56]. Ainsi, nous discutons ici de ce sujet.

### III. Rappel sur le stress oxydant

Le stress oxydant correspond à un déséquilibre entre la génération d'espèces réactives d'oxygène (ERO) et les défenses antioxydantes de l'organisme, en faveur des premières [57]. Dans les circonstances quotidiennes normales, ces espèces sont produites en permanence en faible quantité par divers mécanismes physiologiques et jouent un rôle important dans la signalisation cellulaire, la régulation des cytokines, des facteurs de croissance, en tant qu'immunomodulateurs, etc. [58]. Elles sont aussi impliquées dans le vieillissement naturel de l'organisme humain. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau d'ERO présents. Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Mais lorsque cet équilibre est rompu, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux [55], l'organisme va avoir à faire face à une production

d'ERO beaucoup trop forte à maîtriser, qui sera observée au cours de certaines pathologies chroniques comme le diabète sucré, les cancers, l'hypertension artérielle, les maladies coronariennes, etc. et certaines infections, notamment par les virus à ARN [59], une famille auxquels appartiennent les virus corona.

### IV. Mécanismes de défense de l'organisme contre le stress oxydant

Pour se protéger des effets délétères du stress oxydant, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes (**Figure 3.1**). On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque ; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. À cela s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes [57].

### V. Les systèmes de défense antioxydant au cours du COVID-19

Selon l'étude menée par Pincemail et al. un effondrement important des défenses antioxydantes a été détecté chez les patients COVID-19, comme en témoignent les niveaux de vitamine C, G-SH,  $\gamma$ -tocophérol et  $\gamma$ -carotène qui étaient largement inférieurs à l'intervalle de référence [60].

Le glutathion, un antioxydant crucial, est bien connu pour moduler le comportement de nombreuses cellules, y compris les cellules du système immunitaire, augmentant l'immunité innée et adaptative et conférant une protection contre les infections microbiennes, virales et parasitaires [60, 61, 62]. L'étude de Pincemail et al. a révélé que le statut de GSH était significativement altéré à la baisse chez les patients COVID-19, en particulier chez les longs séjours [60]. Récemment, Polinokov a conclu qu'une carence sanguine en G-SH exacerbe la maladie COVID-19 [63].

Dans l'étude de Pincemail et al., la détermination de la capacité antioxydante totale a été proposée comme une mesure globale de l'efficacité antioxydante [60, 64, 65]. En utilisant une méthodologie électrochimique originale [60, 66], ils ont montré que la capacité antioxydante

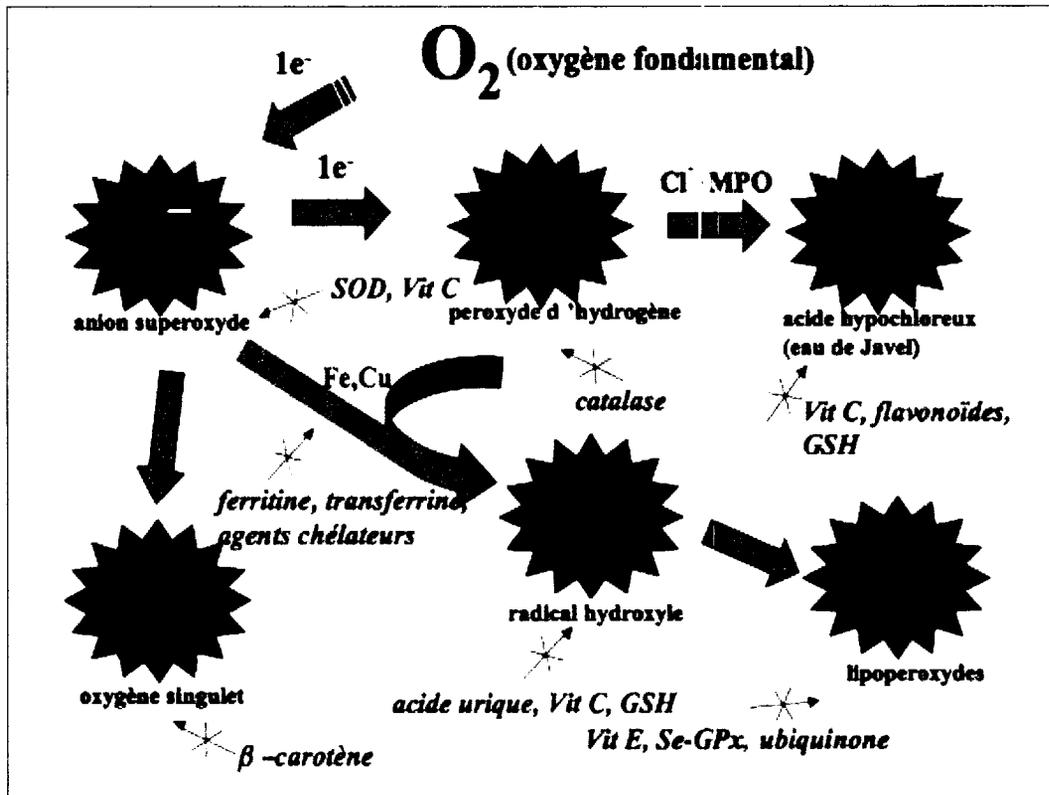


FIGURE 3.1 – Aperçu des différentes espèces oxygénées activées (ERO) et des antioxydants régulateurs de leur production.

totale était logiquement diminué chez les patients COVID-19 très probablement en raison de leurs niveaux très faibles en vitamine C et en GSH [60].

## VI. Mécanismes de génération du stress oxydant au cours de COVID-19

### 1. Mécanisme inclue la libération du fer dans la circulation sanguine par les globules rouges

Une étude a révélé que certaines protéines virales structurales et non structurales pouvaient se lier à la porphyrine, respectivement. Et puisque la porphyrine dans le corps humain entre principalement dans la composition de l'hème de l'hémoglobine, cette même étude a montré que les protéines virales orf1ab, ORF10 et ORF3ε attaquent de manière coordonnée l'hème sur la chaîne 1-bêta de l'hémoglobine lorsque les GR atteignent les alvéoles, dissociant

ainsi le fer pour former un complexe avec la porphyrine [67]. Non seulement, cette attaque provoquera de moins en moins d'hémoglobine capable de transporter de l'oxygène et du dioxyde de carbone, le fer libre à son tour médie la réaction de Fenton et Haber-Weiss ( $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + HO^- + HO^-$ ) [68] et conduit à un stress oxydatif. A cause de la forte perméabilité membranaire de la porphyrine, le complexe (virus-porphyrine) pourrait franchir facilement la membrane des cellules, ce qui peut expliquer la forte infectivité du virus [67].

## 2. Mécanisme inclue la septicémie

Observation faite sur les patients présentant une progression sévère du COVID-19 est qu'ils ont développé des manifestations cliniques typiques de choc, caractéristiques de l'évolution vers une septicémie virale [69, 70]. Il a été démontré que l'hémoglobine libre et l'hème sont augmentés dans le sang à cause de l'hémolyse chez des patients atteints de septicémie[71]. Bien que plusieurs mécanismes impliqués dans l'hémolyse aient été décrits dans les infections virales, il existe un certain nombre d'études montrant que les ERO jouent un rôle dans l'endommagement de la membrane des érythrocytes [71, 72]. La production de niveaux élevés d'ERO chez les patients septiques entraîne des altérations de la membrane érythrocytaire qui, à leur tour, induit une phagocytose par les macrophages et les neutrophiles, perpétuant le cycle avec une production supplémentaire d'ERO [73] (**Figure3.2**) . Cela peut contribuer à une augmentation de l'hémoglobine libre et à de faibles niveaux de transport d'oxygène vers les tissus [73, 74]. L'hémoglobine libre est dissociée, générant de l'hème, qui est ensuite dégradé par l'hème oxygénase (OH-1) pour produire du fer libre; l'hème et le fer libre sont tous deux nocifs pour les cellules [74].

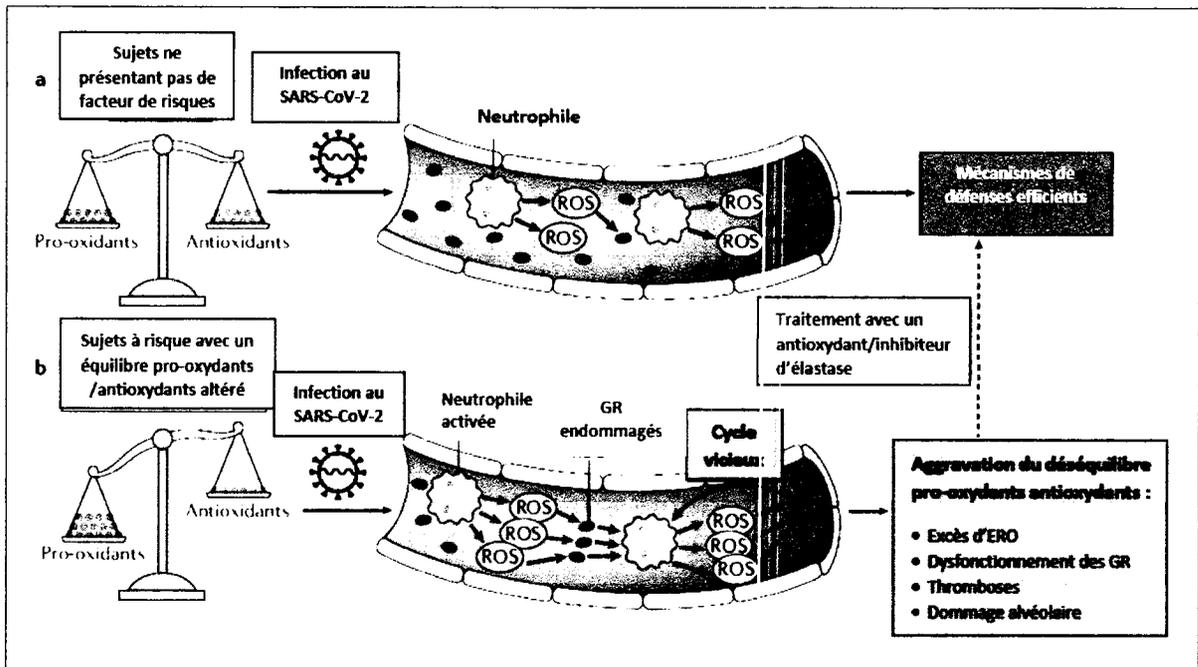


FIGURE 3.2 – L'infection par le SRAS-CoV-2 peut entraîner une libération de ROS (=ERO) induite par les neutrophiles.

► **a** - Chez les individus non à risque, un excès de ROS (=ERO) est contrebalancé par une augmentation des défenses antioxydantes. **b** - Chez les sujets présentant une altération de l'équilibre redox, la production de ROS (=ERO) n'est pas correctement contrôlée, ce qui entraîne une peroxydation membranaire des GR, qui à son tour perpétue l'activation des neutrophiles. Un stress oxydatif excessif pourrait être responsable des dommages alvéolaires, de la thrombose et du dérèglement des GR observés dans COVID-19. Les antioxydants et les inhibiteurs de l'élastase peuvent avoir un potentiel thérapeutique

### 3. Mécanisme implique l'activité de l'ACE2

L'ACE2 abaisse la tension artérielle en catalysant l'hydrolyse de l'angiotensine II (un peptide vasoconstricteur) en angiotensine (1-7) (un vasodilatateur). Le SARS-CoV-2 se lie à l'ACE2 à travers la protéine S virale provoquant ainsi l'entrée du virus dans les cellules et réduit donc la biodisponibilité de l'ACE2. Par conséquent, le niveau d'angiotensine II peut être nettement élevé. Des preuves ont montré que l'angiotensine II lorsqu'elle se lie aux récepteurs de l'angiotensine de type 1 (ATR1) [51, 52], elle régule l'activation de la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) oxydase (NOX) [51, 53, 54, 75, 76]. L'activation des NOX est l'un des principaux contributeurs à la formation des ERO. Par



## VII. Conséquences du stress oxydatif sur les globules rouges

En utilisant la cytométrie de déformabilité en temps réel des chercheurs du Max-Planck-Zentrum für Physik und Medizin à Erlangen ont pu montrer pour la première fois que Covid-19 modifie considérablement la taille et la rigidité des GR et des GB. Selon ces chercheurs, les mécanismes en cause ne sont pas encore bien compris mais selon d'autres études, ces résultats peuvent être la conséquence d'un stress oxydatif [33].

La production excessive d'ERO peut affecter les lipides membranaires, les intégrines et les protéines cytoplasmiques dans diverses cellules circulantes. Malgré les systèmes de défense antioxydantes, enzymatiques et non-enzymatiques, ces effets sont particulièrement critiques pour les globules rouges, qui peuvent devenir dysfonctionnels [57].

- **Altération de la déformabilité des GR nécessaire au transport efficace de l'oxygène** : L'excès d'ERO peut provoquer l'oxydation des acides gras polyinsaturés dans la membrane érythrocytaire, entraînant une modification profonde de la distribution et de l'organisation latérale et transversale des lipides membranaires. Il en résulte une perturbation à la fois de la diffusion de l' $O_2$  et du  $CO_2$  et la capacité de déformabilité des GR dans les vaisseaux capillaires, favorisant ainsi la thrombocytose. La réactivation des neutrophiles en réponse à la modification de la membrane des GR alimente davantage ce cercle vicieux. En plus, cette modification affecte la libération d'ATP et d'oxyde nitrique (NO), tous deux nécessaires au transport adéquat de l'oxygène et à la vasodilatation entre les tissus métabolisant et les surfaces respiratoires [84].
- **Formation de méthémoglobine** : Le stress oxydant perturbe l'équilibre  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  et aboutit à la formation de méthémoglobine dans laquelle le cation de fer de l'hème est à l'état d'oxydation +3 (ferrique), et non pas à l'état d'oxydation +2 (ferreux) qui est celui de l'hémoglobine [74]. L'hème ferrique est incapable de se lier à l'oxygène, ce qui le rend impropre au transport de ce dernier dans le sang. Cela entraîne un décalage vers la gauche de la courbe de dissociation oxygène-hémoglobine. Le diagnostic de la méthémoglobinémie est rarement évoqué étant donné sa rareté, et peut donc rester sous-diagnostiqué pendant la pandémie de COVID-19. La présentation clinique typique consiste en des symptômes brusques d'hypoxie tissulaire. Notamment, comme il s'agit d'une condition d'avidité accrue en hème-oxygène plutôt que d'hypoxiémie, les niveaux d'oxygène dissous dans le sang peuvent être normaux malgré des signes cliniques d'hypoxie et une basse des lectures d'oxymétrie de pouls. Un indice de suspi-

cion élevé est donc requis et le diagnostic est le plus souvent fait sur la co-oxymétrie ou le dosage sanguin spécifique Met-Hb. La sévérité des symptômes est généralement corrélée au taux de Mét-Hb [85].

- **Vieillessement et élimination rapide des GR de la circulation sanguine** : Être constamment exposés à des agressions oxydatives, entraîne des changements biochimiques, physiques et structurels continus. Ces changements altèrent la capacité des GR à transporter l' $O_2$  et déclenchent éventuellement son retrait de la circulation par le système réticulo-endothélial. En plus, les dommages oxydatifs de la protéine Bande 3, étant la protéine transmembranaire intégrale dominante assurant plusieurs fonctions cruciales, conduisent au clivage de son extrémité cytoplasmique, affectant ainsi ces interactions avec les protéines cytosoliques en plus la liaison à l'ankyrine et au cytosquelette. Ces changements limitent la capacité des GR à maintenir la forme biconcave hautement déformable nécessaire pour passer à travers les pores étroits, contribuant ainsi à leur retrait de la circulation [72].

## Partie Pratique

## CHAPITRE

### 1

## OBJECTIFS

Notre présente étude vise à :

- Identifier les perturbations hémobiologiques et les anomalies morphologiques des cellules sanguines, en particulier les GR, au cours de l'infection par le SARS-CoV-2.
- Évaluer le taux de méthémoglobine et le statut du stress oxydatif chez les patients atteints du COVID-19. De plus, faire la corrélation avec la sévérité et l'évolution de la maladie.
- Enfin, nous voulons induire expérimentalement les perturbations de l'hémoglobine et les anomalies morphologiques observées au paravent des cellules sanguines (GR et GB) en mélangeant le plasma des malades COVID-19 avec le culot globulaire des sujets sains pour mettre en évidence l'exacerbation du stress oxydatif.

## CHAPITRE

## 2

# MATÉRIELS ET MÉTHODES

### I. Cadre et type d'étude

Nous avons partagé notre étude en 2 parties, la 1<sup>ère</sup> partie il s'agit d'une étude de type série de cas. La 2<sup>ème</sup> partie il s'agit d'une étude expérimentale, réalisée au niveau du laboratoire des urgences médico-chirurgicales Frantz Fanon – Blida durant une période de 6 mois allant de Janvier 2021 au Juin 2021.

### II. Population d'étude

#### 1. Population malade

- **Critères d'inclusion** : dans notre étude, nous avons inclus dans la population cible :
  - Des sujets de tout âge et des deux sexes
  - Diagnostiqués positifs au COVID-19
  - Hospitalisés au niveau du CHU Frantz Fanon service COVID<sub>01</sub> (Unité de soins intensifs) ou COVID<sub>02</sub> (Isolement)
  - Présentent ou non des comorbidités (diabète, HTA, obésité ...)
- **Critères d'exclusion** : Dans notre étude, nous avons exclus de la population cible :
  - Diagnostiqués négatifs au COVID-19

- Patients symptomatiques mais non-confirmés.

## 2. Population saine

Dans la population saine nous avons inclus des donneurs :

- Âgé entre 18 et 65 ans,
- Pesé au moins 50 kg,
- En bonne santé au moment du don.

## III. Réactifs

- **Coloration des frottis sanguins** : coloration au MGG (Colorants de May Grunwald Giemsa)
- **Dosage de la méthémoglobine** : ferrocyanure de potassium  $K_4[Fe(CN)_6]$
- **Test des Substances Réactives à l'Acide Thiobarbiturique** (test à TBArS) :
  - TCA : Acide trichloracétique
  - TBA : Acide thiobarbiturique
  - NaOH : Hydroxyde de sodium
  - EDTA : Acide éthylènediaminetétraacétique
  - Eau physiologique
- **Evaluation du statut antioxydant total** (Test à ABTS) :
  - ABTS : Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
  - Persulfate de potassium :  $K_2S_2O_8$
  - **Tampon phosphate** : : Phosphate disodique ( $Na_2HPO_4$ ) + phosphate de monopotassium ( $KH_2PO_4$ )

## IV. Appareillage

- FNS : SYSMEX KX 21 et XP-300
- Microscope optique : OPTIKA
- Caméra pour microscope optique
- Spectrophotomètre : JENWAY 7305 spectrophotometer

- **Centrifugeuse normale**
- **Centrifugeuse réfrigérée** : Universal 320R Hettich zentrifugen
- **Bain marie** : Memmert
- **PH-mètre**
- **Balance électronique**
- **Micropipettes**

## V. Méthodes

### 1. Recueil des prélèvements

Les prélèvements sanguins de tous les patients ont été recueillis par ponction veineuse dans des tubes EDTA. On a travaillé sur le sang total en réalisant les tests suivants le jour du prélèvement :

- Une formule numération sanguine (FNS)
- Un frottis sanguin
- Dosage de la méthémoglobine

Puis les échantillons sont centrifugés à 4000 rpm pendant 10 minutes. Le plasma est récupéré et conservé à froid pour réaliser ces tests après

- Évaluation de la peroxydation lipidique (Test à TBARS)
- Évaluation du statut antioxydant total (Test à ABTS)

### 2. Réalisation des tests

Dans notre étude nous avons regroupé les mesures en trois fenêtres temporelles reflétant les stades potentiels de l'infection comme suit :  $J_0$  : présente la jour d'admission  $J_1$  : entre le 4<sup>ème</sup> et le 6<sup>ème</sup> jour  $J_2$  : entre le 7<sup>ème</sup> et le 9<sup>ème</sup> jour [86].

- **FNS** : permet la numération des éléments figurés du sang (globules rouges, globules blancs et plaquettes), le calcul de l'hématocrite, le dosage de l'hémoglobine et éventuellement l'établissement de la formule leucocytaire. Son principe : une suspension de sang dans un diluant conducteur est aspirée et passe entre deux électrodes, chaque cellule sanguine n'étant pas conducteur, entraîne une baisse de la conductivité électrique, la chute de tension est proportionnelle à la taille de la cellule et ces impulsions sont comptées.

- **Frottis sanguin** : consiste à étaler une goutte de sang uniformément sur une lame de verre, de manière à obtenir une seule couche de cellules. Après coloration et fixation au MGG, on a effectué une étude morphologique des éléments figurés du sang (les GR et les GB en particulier), on a aussi fait l'équilibre leucocytaire afin de déterminer le pourcentage des leucocytes notamment les PNN vacuolées.
- **Dosage de la méthémoglobine** : par méthode de DRABKIN [87]. Son principe repose sur la mesure de la densité optique à 630 nm et à 700 nm d'une dilution sanguine (hémolysât) avant et après la transformation totale d'hémoglobine en méthémoglobine. Les étapes de cette méthode sont les suivants :

— Hémolyse puis centrifugation pour éliminer le stroma cellulaire.

— Mesurer les densités optiques à 630 nm et à 700 nm :

1. Hémolysât : (HbO<sub>2</sub> + Hb + MétHb + impuretés) → **DO<sub>1</sub>** à 630 nm

2. Hémolysât : (HbO<sub>2</sub> + Hb + impuretés) → **DO<sub>2</sub>** à 700 nm (Mét-Hb a une absorbance nulle à 700 nm)

$$DO_1 - DO_2 = \text{Absorbance de Mét-Hb}$$

— Mesurer les densités optiques de l'hémolysât à 630 nm et à 700 nm après l'ajout du ferricyanure du potassium :

1. Hémolysât + ferricyanure du potassium : (Mét-Hb + impuretés) → **DO<sub>3</sub>** à 630 nm (le ferricyanure de potassium oxyde l'Hb total en mét-Hb)

2. Hémolysât + ferricyanure du potassium : (impuretés) → **DO<sub>4</sub>** à 700 nm (Mét-Hb a une absorbance nulle à 700 nm)

$$DO_3 - DO_4 = \text{Absorbance de l'Hb totale}$$

— Rapport :

$$\text{Mét-Hb \%} = \frac{DO_1 - DO_2}{DO_3 - DO_4}$$

Les valeurs usuelles sont inférieures à 2 % (de l'hémoglobine totale). Les symptômes observés sont d'intensité proportionnelle au taux de méthémoglobine dans le sang [88] :

- A partir de 10 % : cyanose ;
- A partir de 30 % : signes fonctionnels d'anoxie ;
- Entre 30 et 50 % : léthargie, tachycardie et dyspnée ;
- Supérieur à 50 % : atteinte du système nerveux central et des lésions neurologiques ;

- De 70 à 85 % : mortel

- **Évaluation de la peroxydation lipidique** : par le test aux substances réactives à l'acide thiobarbiturique (test à TBARS). Le principe de ce test repose sur l'utilisation d'une solution acide (acide trichloroacétique : TCA) pour extraire les substances réactives à l'acide thiobarbiturique de l'échantillon, principalement le malondialdéhyde (MDA) qui est un marqueur du stress oxydatif cellulaire. Après extraction, la solution obtenue est centrifugée à froid (+4°C). Une solution du thiobarbiturique est ajoutée au surnageant récupéré. Ce mélange réactionnel est incubé à 95°C avant mesure de l'absorbance à 534 nm [89]. (Protocole : voir annexe A)
- **Evaluation du statut antioxydant total (Test à ABTS)** : ce test permet de mesurer la capacité relative des anti-oxydants à piéger le radical ABTS<sup>o+</sup> généré. En réagissant avec un agent oxydant fort (dans notre étude : persulfate de potassium), L'ABTS [acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenz-thiazoline-6-sulfonique)] forme le radical ABTS<sup>o+</sup>, de couleur bleue à verte. La réduction du radical : ABTS<sup>o+</sup> par les antioxydants est mesurée par la suppression de son spectre d'absorption à une longueur d'onde caractéristique : 734 nm [90]. (Protocole : voir annexe B)

### 3. Recueil des données

Le recueil des données des patients a été réalisé après étude de leurs dossiers médicaux. Ceci est réalisé à l'aide d'une fiche dite de renseignements qui inclue : le nom, le prénom, l'âge, le sexe, la date d'admission et le date de sortie ou de décès.

### 4. Analyse statistique des données

L'analyse statistique de nos résultats a été effectuée par le logiciel « SPSS » (Statistical Package for the Social Sciences) version 25 ainsi par Microsoft Excel 2019.

Les données récoltées ont été représentées sous forme des tableaux, des histogrammes et des boites à moustaches. Nous avons déterminé les moyennes, les écart-types, les extrêmes et les pourcentages.

Afin d'analyser les variables quantitatives, on a réaliser le test de student, une valeur de  $P < 0,05$  a été retenue comme statistiquement significative.

## VI. Étude quantitative et qualitative des éléments figurés du sang

### 1. Hémogramme

Tableau 2.1 – Valeurs normales de l'hémogramme chez l'adulte

	Unité	Homme	Femme
Leucocytes	$[10^3/mm^3]$	4.5 - 11	
Hématies	$[10^6/mm^3]$	4.5 - 5.9	4 - 5.2
Plaquettes	$[10^3/mm^3]$	150 - 450	
PNN	$[/mm^3]$	1800 - 7700	
PNE	$[/mm^3]$	40 - 300	
PNB	$[/mm^3]$	< 50	
Lymphocytes	$[/mm^3]$	1000 - 4800	
Monocytes	$[/mm^3]$	200 - 1200	
Hémoglobine	$[g/dL]$	14 - 17	12 - 16
hématocrite	$[\%]$	41 - 51	36 - 47
VGM	$[dL]$	80 - 100	
TCMH	$[pg]$	28 - 32	
CCMH	$[g/dL]$	32 - 36	
RDW	$\%$	11 - 15	

2. Etude qualitative des globules rouges et des globules blancs

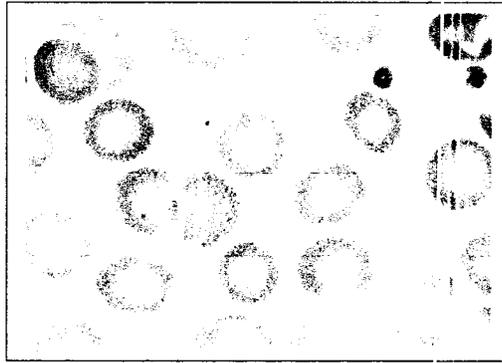


FIGURE 2.1 – Globules rouges normaux

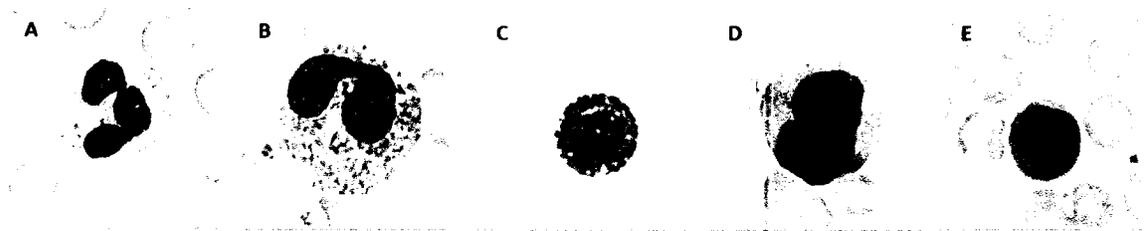


FIGURE 2.2 – Globules blancs normaux

► (A) : *Polynucléaire neutrophile*. (B) : *Polynucléaire eosinophile*. (C) : *Polynucléaire basophile*. (D) : *Monocyte*. (E) : *Lymphocyte*

CHAPITRE

3

RÉSULTATS

**I. Description épidémiologique de la population étudiée**

**1. Nombre d'échantillon**

Notre étude a été réalisée sur 145 sujets dont 38 sujets sains (donneurs) et 107 patients ayant un diagnostic confirmé de COVID-19. Selon la sévérité de l'infection, ces patients ont été divisés en trois catégories :

- **Admis au service de soins intensifs** : 42 malades (dont les formes sévère et critiques)
- **Admis au service d'isolement** : 52 malades (formes modérées)
- **Envoyés à la maison avec des consignes** : 13 malades (formes légères)

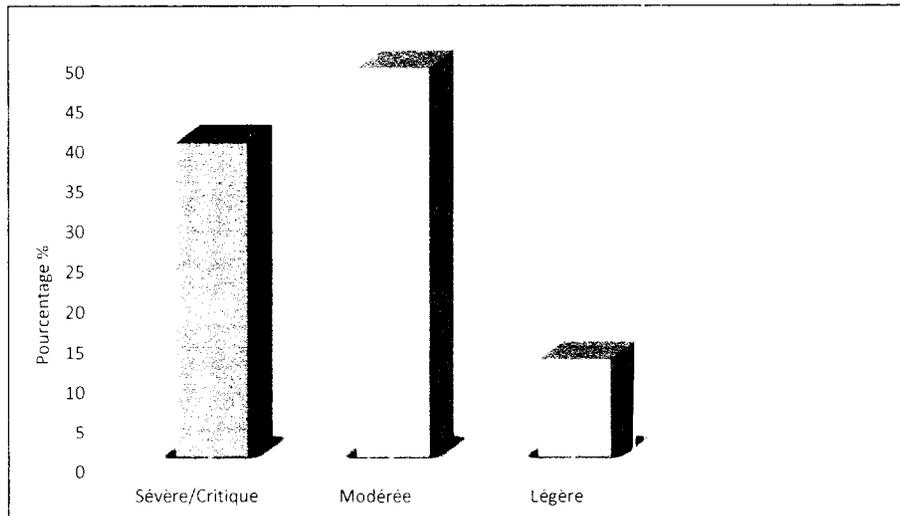


FIGURE 3.1 – Répartition de la population malade selon la sévérité

## 2. Répartition de la population selon l'âge

Tableau 3.1 – Répartition de la population saine et malade selon l'âge

Population	Saine	Malade
Âge moyen	36.931	59.135
Écart-type	9.219	19.1
Extrêmes	[22 ; 58]	[18 ; 90]

Tableau 3.2 – Répartition de la population malade selon l'âge

Forme de la maladie	Sévère/Critique	Modérée	Légère
Âge moyen	67	53,917	37.833
Écart-type	17,416	15.228	9,561
Extrêmes	[32 ; 90]	[22 ; 72]	[18 ; 50]
P	S-M = ,026	M-L = ,005	S-L = ,000

L'âge moyen de notre population malade est 59 ans et de la population saine est 36 ans. Bien que toutes les tranches d'âge soient exposées au risque de contracter la COVID-19, dans notre population malade, le risque de développer une forme sévère/critique de la COVID-19 augmente significativement avec l'âge avec un âge moyen de 67 ans, 53,9 ans et 37,8 ans pour les trois formes : sévère/critique, modérée et légère respectivement.

### 3. Répartition de la population selon le sexe

Tableau 3.3 – Répartition de la population saine et malade selon le sexe

Sexe \ Population	Saine		Malade	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Féminin	5	13	44	41,12
Masculin	33	87	63	58,87

Parmi l'ensemble des sujets malades ayant fait l'objet de cette étude, 44 patients étaient de sexe féminin (41,12 %) et 63 patients de sexe masculin (58,87 %), marquant ainsi une nette prédominance masculine avec un sexe ratio de 1,43 (H/F).

Tableau 3.4 – Répartition de la population malade selon le sexe

Sexe \ Forme	Sévère/Critique		Modérée		Légère	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Féminin	13	30,95	22	42,31	9	69,23
Masculin	29	69,05	30	57,69	4	30,77

Au sein même de notre population malade, on a retrouvé : 29 hommes (69,05 %) qui présentaient une forme sévère/critique contre 13 femmes (30,95 %) avec un sexe ratio de 2,23 (H/F), et 30 hommes (57,69 %) qui présentaient une forme modérée contre 22 femmes (42,31 %) avec un sexe ratio de 1,36 (H/F), ainsi que 4 hommes (30,77 %) qui présentaient une forme légère contre 9 femmes (69,23 %) avec un sexe ratio de 0,4 (H/F).

D'après ces résultats, on remarque que les hommes sont nettement plus susceptibles d'attraper une forme sévère/critique à modérée de la maladie que les femmes, ce qu'on peut le voir à travers le sexe ratio (H/F) qui est plus élevé chez ces 2 formes. Les femmes sont vulnérable à développer une forme légère.

#### 4. Répartition de la population malade selon le séjour d'hospitalisation

Tableau 3.5 – Répartition de la population malade selon le séjour d'hospitalisation

Forme	Moyenne (jours)	Écart-type	Extrêmes	P
Sévère/Critique	10.930	8.407	[1 ; 35]	,940
Modérée	10.711	4.030	[5 ; 36]	
Légère	0	0	0	0

Les patients atteints de la COVID-19 compris dans notre étude, restent en moyenne 10 jours à l'hôpital, que ce soit ils ont développé une forme sévère/critique ou modérée. La différence entre ces 2 formes est statistiquement pas significative ( $p < 0,05$ ).

#### 5. Répartition des malades de la forme sévère/critique selon leur évolution de l'état

Tableau 3.6 – Répartition des malades de la forme sévère/critique selon leur évolution

Forme \ Évolution	Bonne évolution		Décédé	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Sévère/Critique	14	33,33	28	66,67

Parmi l'ensemble des malades de la forme sévère/critique (42 malades), 14 malades (soit 33,33 %) ont connu une bonne évolution d'état, alors que 28 malades (soit 66,66 %) ont décédé. Notons ainsi que les malades de la forme modérée et légère ont tous connu une bonne évolution.

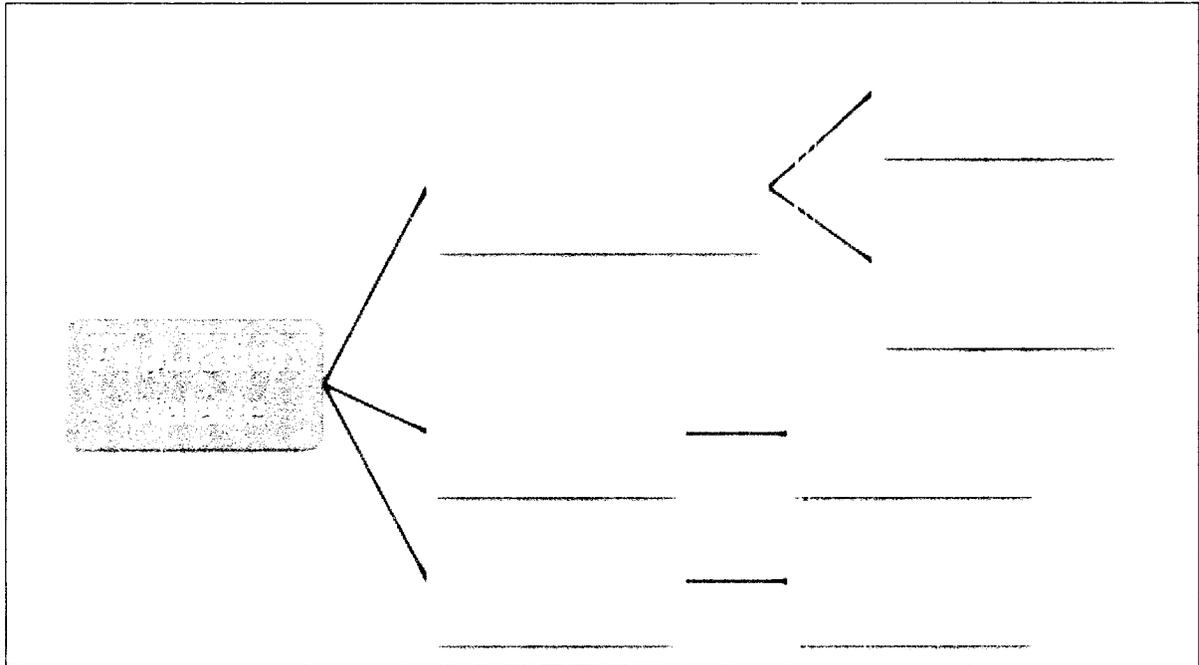


FIGURE 3.2 – Répartition de la population malade selon l'évolution d'état des malades

## II. Perturbations des paramètres hématologiques à l'admission des malades

### 1. Lignée érythrocytaire

Tableau 3.7 – Anomalies des paramètres érythrocytaires chez la population saine et malade à l'admission

Paramètres	Population	Moyenne	Écart-type	Extrêmes	P
GR	Saine	5.092	0.349	[4.38 ; 5.83]	.000
	Malade	4.420	0.815	[1.85 ; 6.25]	
Hémoglobine	Saine	14.982	1.118	[11.4 ; 16.4]	.000
	Malade	12.6	2.261	[5.7 ; 16.5]	
RDW	Saine	12.597	0.608	[11.4 ; 14.2]	.000
	Malade	13.734	1.905	[11.2 ; 24.1]	

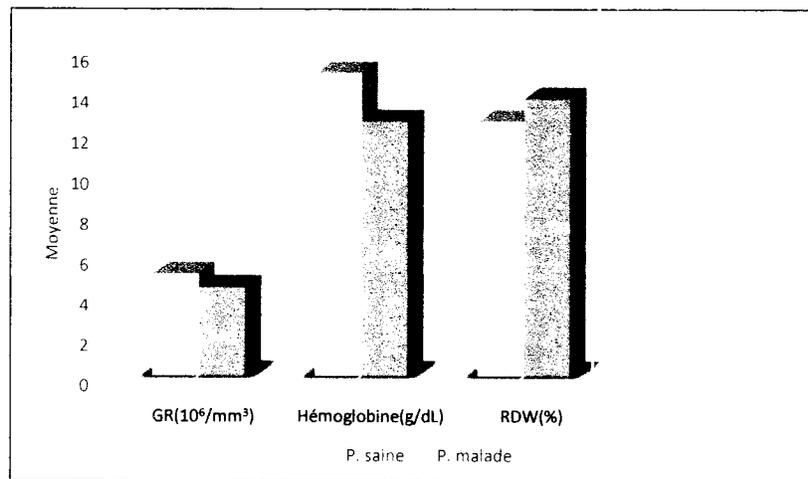


FIGURE 3.3 – Anomalies des paramètres érythrocytaires chez la population saine et malade à l'admission

L'analyse des paramètres érythrocytaires de sujets malades montre une diminution du nombre de GR avec une moyenne de  $4,42 \cdot 10^6/mm^3$  et du taux d'Hb avec une moyenne de  $12,6 g/dL$ , et une augmentation de RDW avec une moyenne de  $13,766 \%$  et cela par rapport au sujets sains avec un  $P < 0,05$ .

Tableau 3.8 – Anomalies des paramètres érythrocytaires chez la population malade à l'admission par rapport à la sévérité de la maladie

Paramètres	Forme	Moyenne	Écart-type	Extrêmes	P
GR	Sévère/Critique	4.254	0.973	[1.85 ; 6.25]	S-M = ,291
	Modérée	4.448	0.692	[2.84 ; 5.77]	M-L = ,002
	Légère	4.898	0.313	[4.46 ; 5.3]	S-L = ,001
Hémoglobine	Sévère/Critique	12.043	2.542	[5.7 ; 16.5]	S-M = ,446
	Modérée	12.772	2.065	[8.4 ; 16.5]	M-L = ,133
	Légère	13.766	1.491	[9.9 ; 15.9]	S-L = ,037
RDW	Sévère/Critique	14.065	1.418	[11.9 ; 17.8]	S-M = ,284
	Modérée	13.618	2.267	[11.6 ; 24.1]	M-L = ,403
	Légère	13.016	1.840	[11.2 ; 17.7]	S-L = ,040

Au sein de notre population malade, les moyennes du nombre des GR chez les malades de la forme sévère/critique est de  $4.254 \cdot 10^6/mm^3$ , la forme modérée est de  $4.448 \cdot 10^6/mm^3$  et pour la forme légère est de  $4.898 \cdot 10^6/mm^3$ . La différence est statistiquement significative entre la forme modérée et légère et entre la forme sévère/critique et légère avec un ( $P < 0,05$ ).

Les moyennes du taux d'hémoglobine chez les malades de la forme sévère/critique est de  $12.043 g/dL$ , la forme modérée est de  $12,772 g/dL$  et pour la forme légère est de  $13.766 g/dL$ . La différence est statistiquement significative qu'entre la forme sévère/critique et légère avec un ( $P < 0,05$ ).

Les moyennes du taux de RDW chez les malades de la forme sévère/critique est de  $14.065 \%$ , la forme modérée est de  $13.618 \%$  et enfin pour la forme légère est de  $13.06 \%$ . De même que l'hémoglobine, la différence est statistiquement significative qu'entre la forme sévère/critique et légère avec un ( $P < 0,05$ ).

Tableau 3.9 – Anomalies des paramètres érythrocytaires chez les malades de la forme sévère/critique à l'admission par rapport à leur évolution

Paramètres	Évolution	Moyenne	Écart-type	Extrêmes	P
GR	Bonne évolution	4,357	0,713	[2,86 ; 5,34]	0,633
	Décédé	4,202	1,089	[1,85 ; 6,25]	
Hémoglobine	Bonne évolution	12,178	1,928	[9,2 ; 15,8]	0,906
	Décédé	12,078	2,841	[5,7 ; 16 ;5]	
RDW	Bonne évolution	13,9	1,477	[12 ; 17,8]	0,596
	Décédé	14,15	1,408	[11,9 ; 17,2]	

Les malades de la forme sévère/critique avec une bonne évolution ont les moyennes de paramètres érythrocytaires suivantes : GR  $4,357 \cdot 10^6/mm^3$ , Hb  $12,178 \text{ g/dL}$  et RDW 13,9%.

Pour les malades décédés, les moyennes étaient de : GR  $4,202 \cdot 10^6/mm^3$ , Hb  $12,078 \text{ g/dL}$  et RDW 14,15 %. Selon ces résultats, on note que la différence entre les malades avec une bonne évolution et ceux qui ont décédé n'est pas statistiquement significative  $P > 0,05$  et ceci pour les paramètres considérés dans le tableau.

## 2. Lignée leucocytaire

Tableau 3.10 – Anomalies des paramètres leucocytaires chez la population saine et malade à l'admission

Paramètres	Population	Moyenne	Écart-type	Extrêmes	P
GB	Saine	8.046	2.11	[5.1 ; 14.2]	.000
	Malade	11.081	5.884	[1.7 ; 34.8]	
PNN	Saine	4.668	1.38	[2.6 ; 7.7]	.000
	Malade	9.005	5.754	[1.2 ; 31.8]	
Lymphocyte	Saine	2.605	0.641	[1.7 ; 4.8]	.000
	Malade	1.337	1.067	[0.1 ; 7.9]	

L'analyse des paramètres leucocytaires de sujets malades montre que le nombre de GB et des PNN est significativement élevé par rapport aux sujets sains ( $P < 0,05$ ) avec des moyennes de  $8,045 \cdot 10^3/mm^3$  et  $9,005 \cdot 10^3/mm^3$  respectivement. Alors que les lymphocytes sont diminués ( $1,337 \cdot 10^3/mm^3$ ) par rapport aux sujets sains avec un  $P < 0,05$ .

Tableau 3.11 – Anomalies des paramètres leucocytaires chez la population malade à l'admission

Paramètres	Forme	Moyenne	Écart-type	Extrêmes	P
GB	Sévère/Critique	14.521	6.415	[1.7; 34.8]	S-M = ,000
	Modérée	9.166	4.466	[3.2; 19.4]	M-L = ,184
	Légère	7.308	2.504	[4.3; 13.9]	S-L = ,000
PNN	Sévère/Critique	12.694	6.055	[1.2; 31.8]	S-M = ,000
	Modérée	7.621	4.620	[1.5; 16.4]	M-L = ,003
	Légère	4.563	1.806	[2.4; 8.4]	S-L = ,000
Lymphocyte	Sévère/Critique	0.890	0.583	[0.1; 2.6]	S-M = ,001
	Modérée	1.511	1.202	[0.3; 7.9]	M-L = ,033
	Légère	2.283	1.008	[0.6; 4.4]	S-L = ,000

Chez la forme sévère/critique, le nombre de GB est nettement plus élevé que la normale avec une moyenne de  $14,512 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$ . Cette augmentation est statistiquement significative ( $P < 0,05$ ) par rapport à la forme modérée et légère qui présentent des moyennes,  $9,166 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$  et  $7,308 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$  respectivement, comprises dans la fourchette de la normale. La différence n'est pas significative entre la forme modérée et légère ( $P > 0,05$ ).

Chez la forme sévère/critique, le nombre de PNN est augmenté par rapport à la normale avec une moyenne de  $14,512 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$ . Cette augmentation est statistiquement significative ( $P < 0,05$ ) par rapport à la forme modérée et légère qui présente des moyennes comprises dans l'intervalle de référence ( $7,621$  et  $4,563 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$  respectivement). Cependant, la différence entre ces 2 formes est statistiquement significative ( $P < 0,05$ ).

En ce qui concerne les valeurs des lymphocytes, chez la forme sévère/critique, leur nombre est nettement diminué par rapport à la valeur normale avec une moyenne de  $0,890 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$ . Cette diminution est statistiquement significative ( $P < 0,05$ ) par rapport à la forme modérée et légère qui présentent des moyennes dans les normes ( $1,511$  et  $2,283 \text{ } 10^3/\text{mm}^3$  respectivement) malgré cela, la différence est significative entre ces 2 formes ( $P < 0,05$ ).

Tableau 3.12 – Anomalies des paramètres leucocytaire chez les malades de la forme sévère/critique à l'admission par rapport à leur évolution

Paramètres	Évolution	Moyenne	Écart-type	Extrêmes	P
GB	Bonne évolution	11,842	4,599	[1,7 ; 18,3]	0,42
	Décédé	16,06	6,765	[5 ; 34,8]	
PNN	Bonne évolution	10,392	4,426	[1,2 ; 17,2]	0,41
	Décédé	14,316	6,089	[2,9 ; 31,8]	
Lymphocytes	Bonne évolution	0,828	0,539	[0,3 ; 2]	0,868
	Décédé	0,860	0,61	[0,1 ; 2,6]	

Les malades de la forme sévère/critique avec une bonne évolution ont les moyennes de paramètres leucocytaires suivantes : GB = 11,842  $10^3/mm^3$ , PNN = 10,392  $10^3/mm^3$  et lymphocytes = 0,828  $10^3/mm^3$ . Pour les malades décédés, les moyennes étaient de : GB 16,06  $10^3/mm^3$ , PNN 14,316  $10^3/mm^3$  et lymphocytes 0,860  $10^3/mm^3$ . Notons ainsi à partir du tableau que les différences ne sont pas statistiquement significatives ( $P > 0,05$ ) entre les malades avec une bonne évolution et les malades décédés pour les paramètres considérés.

### III. Perturbation des paramètres du stress oxydatif à l'admission

#### 1. Méthémoglobine

- Selon la sévérité :

Tableau 3.13 – Répartition des malades des 3 formes selon la méthémoglobinémie normale ou pathologique

	Intervalles	Sévère/critique		Modérée		Légère	
		Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Méthémoglobine	< 2%	0	0	3	6,976	3	27,272
	> 2%	25	100	40	93,023	8	72,727

En analysant les résultats du **Tableau 3.13**, on note que 100 % des malades (pour ce qui nous avons dosé la Mét-Hb) de la forme sévère/critique ont un taux de Mét-Hb > 2%. Tandis que la majorité des malades de la forme modérée (93,023 %) et la forme légère (72,727 %) ont une méthémoglobinémie > 2%. Notons ainsi que le nombre de malade avec un taux de Mét-Hb > 2% augmente avec la sévérité de la maladie.

Tableau 3.14 – Répartition des malades des 3 formes selon les intervalles de la méthémoglobine

	Intervalles	Sévère/critique		Modérée		Légère	
		Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Méthémoglobine	[2; 10]	4	16	15	37,5	5	62,5
	[10; 30]	13	52	13	32,5	2	25
	[30; 50]	4	16	7	17,5	1	12,5
	[50; 70]	3	12	3	7,5	0	0
	> 70%	1	4	2	5	0	0

Les résultats du **Tableau 3.14** montrent que le nombre de malades avec un taux de méthémoglobine < 10% est nettement plus élevé chez la forme légère (62 %) que la forme modérée (37 %) et sévère/critique (16 %). Par contre, le nombre de malades avec une méthémoglobine > 10% sont plus élevés chez la forme sévère/critique (84 %) que la forme modérée (62,5 %) et légère (37,5%).

Tableau 3.15 – Le taux de la Méthémoglobine chez les 3 formes à l'admission

Paramètres	Forme	Moyenne	Écart-type	Extrêmes	P
Méthémoglobine	Sévère/Critique	27.63	20.93	[2,5; 75,6 ]	S-M = ,299
	Modérée	22.11	20.98	[0,2; 75]	M-L = ,044
	Légère	8.56	10.98	[1,3; 37]	S-L = ,008

Les malades avec une forme sévère/critique ont une moyenne de Mét-Hb de 27,63 %. Chez la forme modérée, elle est de 22,11 % et chez la forme légère 8,56 %. La différence est statistiquement significative entre la forme modérée et légère et entre la forme sévère/critique et légère avec un ( $P < 0,05$ ). Par contre, elle n'est pas significative entre la forme sévère/critique et modérée ( $P > 0,05$ ). On note que la Mét-Hb chez les 3 formes est supérieur à l'intervalle de référence (< 2%) avec des moyennes qui s'accroissent en fonction de la sévérité de l'infection.

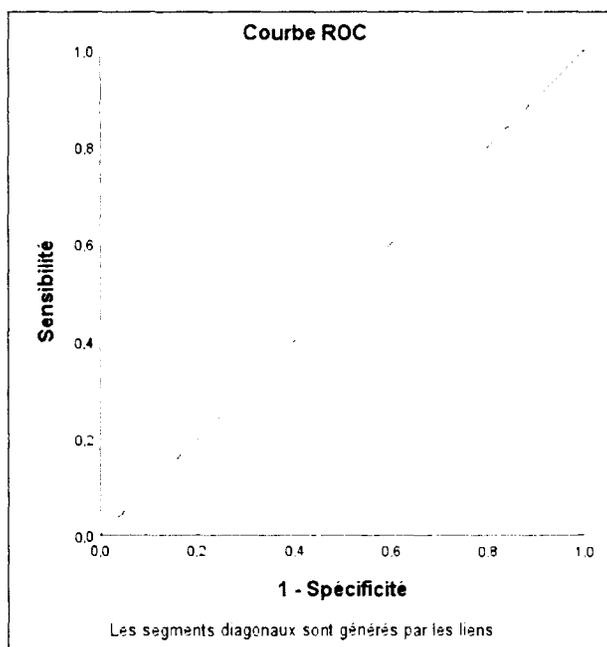


FIGURE 3.4 – Courbe de ROC

Tableau 3.16 – Calcul de sensibilité et de spécificité de méthémoglobinémie à l'admission par rapport à l'évolution de la maladie

Positif si supérieur ou égal à	Sensibilité	Spécificité
16,6350	,720	,558

Le taux de méthémoglobine pour lequel on a la plus grande sensibilité (72 %) et de spécificité (55,8 %) est 16,63 %.

Tableau 3.17 – Calculs des cordonnés de courbe de ROC de méthémoglobinémie à l'admission par rapport à l'évolution de la maladie

Air sous la courbe	P	Intervalle de confiance
,604	,154	[,465 ; ,743]

• Selon l'évolution :

Tableau 3.18 – Répartition des malades de la forme sévère/critique selon leur évolution et selon les intervalles de la méthémoglobinémie

	Intervalles	Sévère/Critique			
		Bonne évolution		Décédés	
		Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Méthémoglobine	[2; 10]	4	36,363	0	0
	[10; 30]	6	54,545	7	50
	[30; 50]	1	9,09	3	21,428
	[50; 70]	0	0	3	21,428
	> 70%	0	0	1	7,142

On note sur le **Tableau3.18** que la totalité des malades de la forme sévère/critique avec une bonne évolution ont un taux de Mét-Hb qui ne dépasse pas 50%. Or que chez les malades décédés, 28,57 % des malades ont un taux qui excède les 50 %.

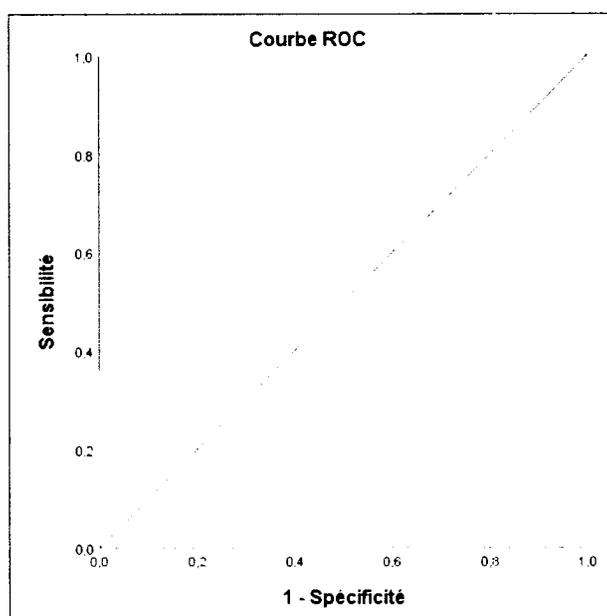


FIGURE 3.5 – Courbe de ROC

Tableau 3.19 – Calcul de sensibilité et de spécificité de méthémoglobémie à l'admission par rapport à l'évolution de la maladie

Positif si supérieur ou égal à	Sensibilité	Spécificité
19,5200	,714	,727

Le taux de méthémoglobine pour lequel on a la plus grande sensibilité (71,4 %) et de spécificité (72,7 %) est 19,52 %.

Tableau 3.20 – Calculs des coordonnées de courbe de ROC de méthémoglobémie à l'admission par rapport à l'évolution de la maladie

Air sous la courbe	P	Intervalle de confiance
,753	,033	[,562 ; ,945]

Tableau 3.21 – Répartition des malades de la forme sévère/critique à l'admission selon le taux de méthémoglobine et selon leur évolution

Paramètres	Évolution	Moyenne	Écart-type	Extrême	P
Méthémoglobine	Bonne évolution	16,189	11,886	[2,75 ; 38]	,008
	Décédé	36,619	22,426	[12,37 ; 75,61]	

Les malades de la forme sévère/critique avec une bonne évolution présentent des taux de méthémoglobine significativement plus bas (16,189 %) par rapport aux malades décédés (36,619 %).

## 2. Autres paramètres :

Tableau 3.22 – paramètres du stress oxydatif chez la population malade à l'admission

Paramètres	Forme	Moyenne	Écart-type	Extrêmes	P
MDA	Sévère/Critique	0.029	0.03	[0,001 ; 0,105]	S-M = ,015
	Modérée	0.011	0.008	[0 ; 0,031]	M-L = ,069
	Légère	0.021	0.017	[0,001 ; 0,043]	S-L = ,546
ABTS	Sévère/Critique	83.341	5.84	[73,5 ; 98,2]	S-M = ,292
	Modérée	81.054	4.89	[75,1 ; 93,1]	M-L = ,689
	Légère	79.925	4.13	[76,6 ; 85,7]	S-L = ,287

Les valeurs de MDA sont presque les mêmes chez la forme sévère/critique et la forme légère avec des moyennes de 0.029 et 0.021 respectivement, alors que chez la forme modérée est de 0.011. La différence est statistiquement significative qu'entre la forme sévère/critique et modérée ( $P < 0,05$ ).

Les moyennes d'ABTS à leur tour s'accroissent en fonction de la sévérité de l'infection (forme légère 79,925%, forme modérée 81,054 % et forme sévère/critique 83,341 %). Ces résultats ne sont pas statistiquement significatifs ( $P > 0,05$ ).

Tableau 3.23 – Anomalies des paramètres du stress oxydatif chez les malades de la forme sévère/critique à l'admission et selon leur évolution

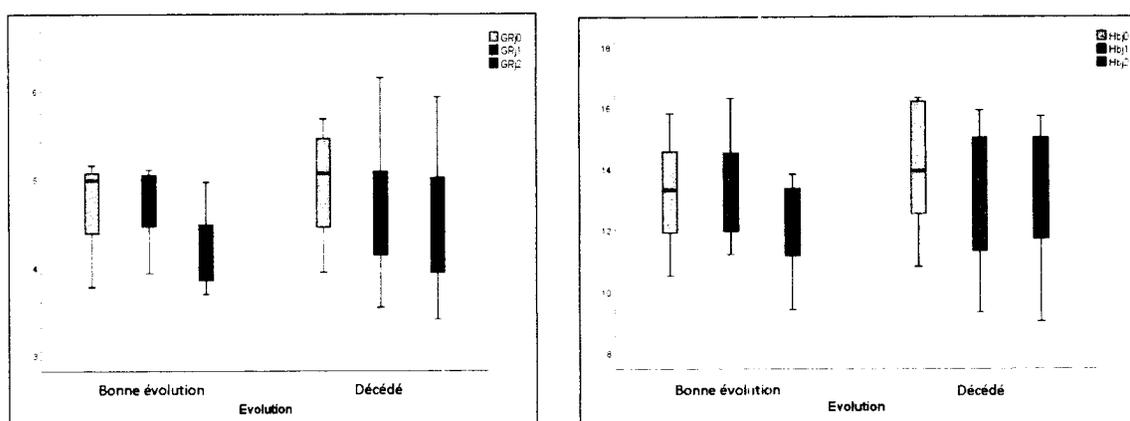
Paramètres	Évolution	Moyenne	Écart-type	Extrême	P
MDA	Bonne évolution	0,033	0,03	[0,001 ; 0,091]	0,612
	Décédé	0,026	0,031	[0,001 ; 0,105]	
ABTS	Bonne évolution	83,262	4,731	[73,5 ; 88,4]	0,960
	Décédé	83,411	6,972	[76,2 ; 98,2]	

Les malades de la forme sévère/critique avec une bonne évolution présentent des moyennes de MDA de 0,033 et d'ABTS de 83,262 %. Tandis que chez les décédés la moyenne de MDA est de 0,026 et la moyenne de l'ABTS est de 83,411 %.

## IV. Étude cinétique des paramètres érythrocytaires, leucocytaires et du stress oxydatif en fonction de l'évolution et la sévérité de l'infection à COVID-19

### 1. Paramètres hématologiques

- Forme sévère/critique

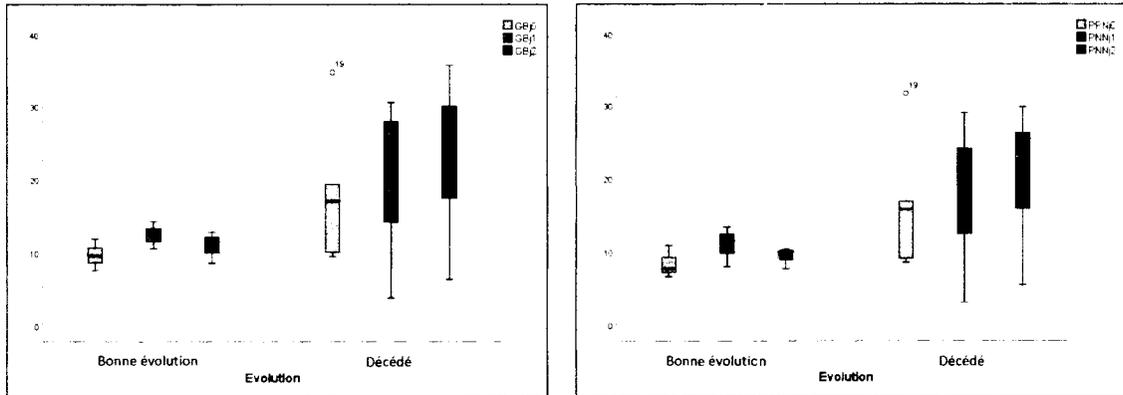


(a) Étude cinétique des GR chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution ou décédé

(b) Étude cinétique de l'Hb chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution ou décédé

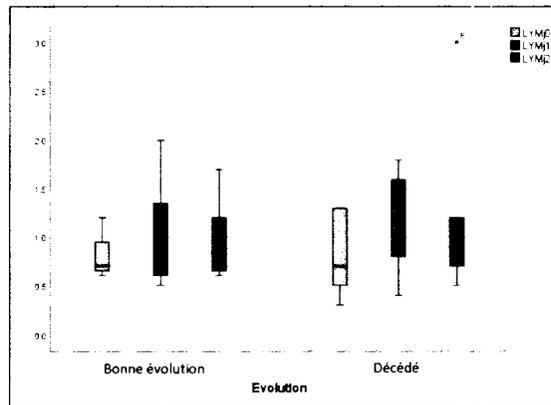
FIGURE 3.6 – Étude cinétique des paramètres érythrocytaires chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution et décédé

Après l'étude cinétique des paramètres érythrocytaires chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution, on a remarqué que les valeurs de GR entre  $j_0$  et  $j_1$  restent stable puis diminuent entre  $j_1$  et  $j_2$ . Alors que les taux d'Hb diminuent entre  $j_0$  et  $j_1$  puis augmentent faiblement entre  $j_1$  et  $j_2$ . Par contre, chez les décédés, les GR sont en constante diminution de  $j_0$  et jusqu'à  $j_2$ . Tandis que l'Hb augmente faiblement entre  $j_0$  et  $j_1$  puis diminue entre  $j_1$  et  $j_2$ .



(a) Étude cinétique des GB chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution ou décédé

(b) Étude cinétique des PNN chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution ou décédé

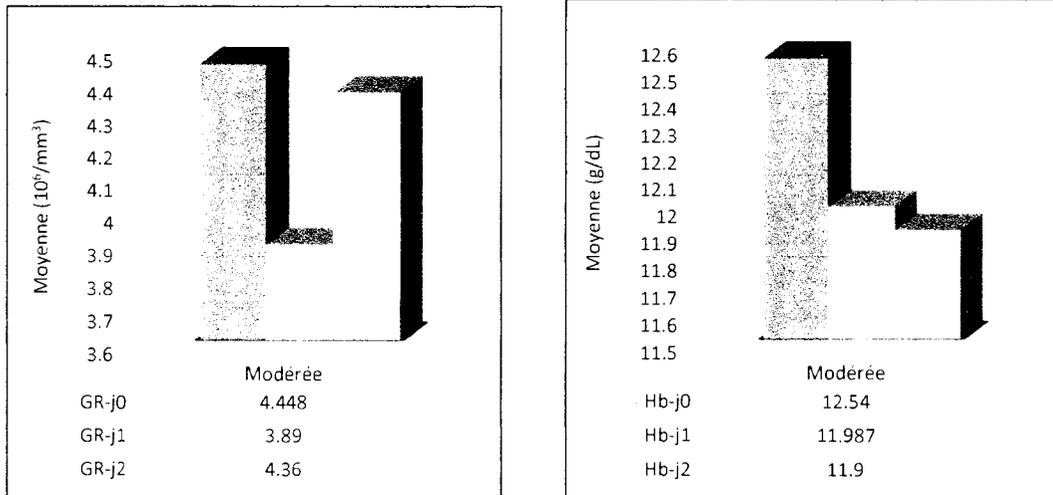


(c) Étude cinétique des Lymphocytes chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution ou décédé

FIGURE 3.7 – Étude cinétique des paramètres leucocytaires chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution et décédé

Après l'étude cinétique des paramètres leucocytaires chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution, on a remarqué une augmentation des valeurs des GB, PNN et des lymphocytes entre  $j_0$  et  $j_1$  suivi de leur diminution entre  $j_1$  et  $j_2$ . Alors que ces mêmes valeurs chez les décédés sont en augmentation constante de  $j_0$  et jusqu'à  $j_2$  sauf pour les lymphocytes qui diminuent entre  $j_1$  et  $j_2$ .

• Forme modérée

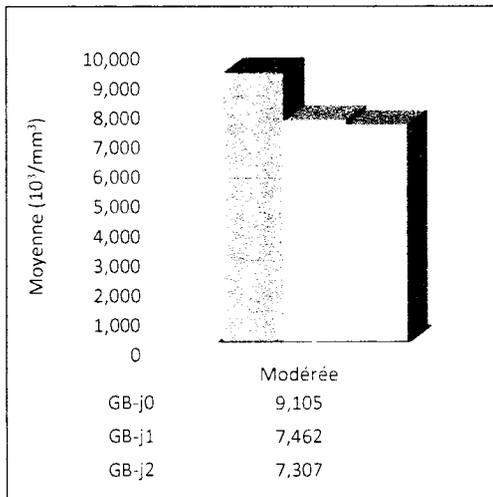


(a) Étude cinétique des GR chez la forme modérée

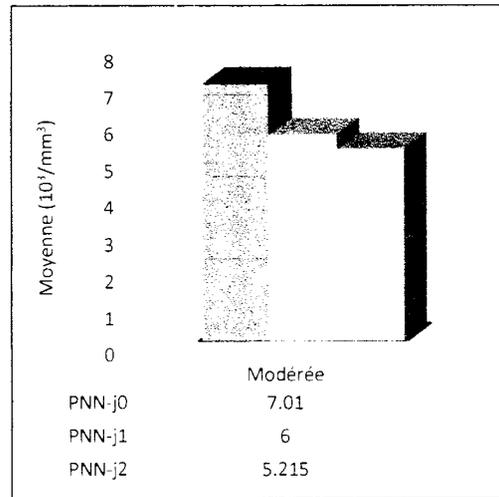
(b) Étude cinétique de l'Hb chez la forme modérée

FIGURE 3.8 – Étude cinétique des paramètres érythrocytaires chez la forme modérée

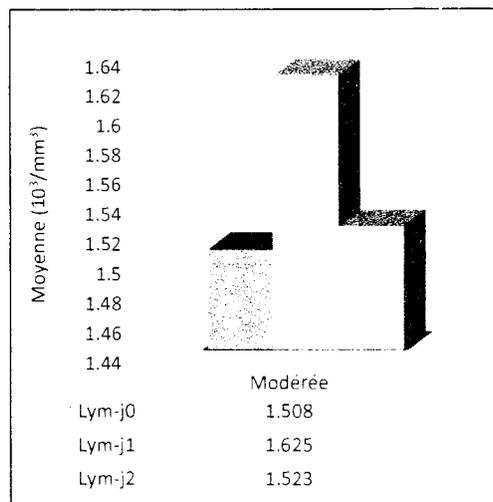
Après l'étude cinétique des paramètres érythrocytaires chez la forme modérée, on a remarqué une diminution des valeurs des GR et d'hémoglobine entre  $j_0$  et  $j_1$  (de  $4,448 \cdot 10^3/mm^3$  à  $3,89 \cdot 10^3/mm^3$  pour les GR et de  $12,54 \text{ g/dL}$  à  $11,987 \text{ g/dL}$  pour l'Hb) suivi d'une augmentation des GR entre  $j_1$  et  $j_2$  (de  $3,89 \cdot 10^3/mm^3$  à  $4,36 \cdot 10^3/mm^3$ ) alors que l'hémoglobine continue à se diminuer (jusqu'à  $11,9 \text{ g/dL}$ ).



(a) Étude cinétique des GB chez la forme modérée



(b) Étude cinétique des PNN chez la forme modérée

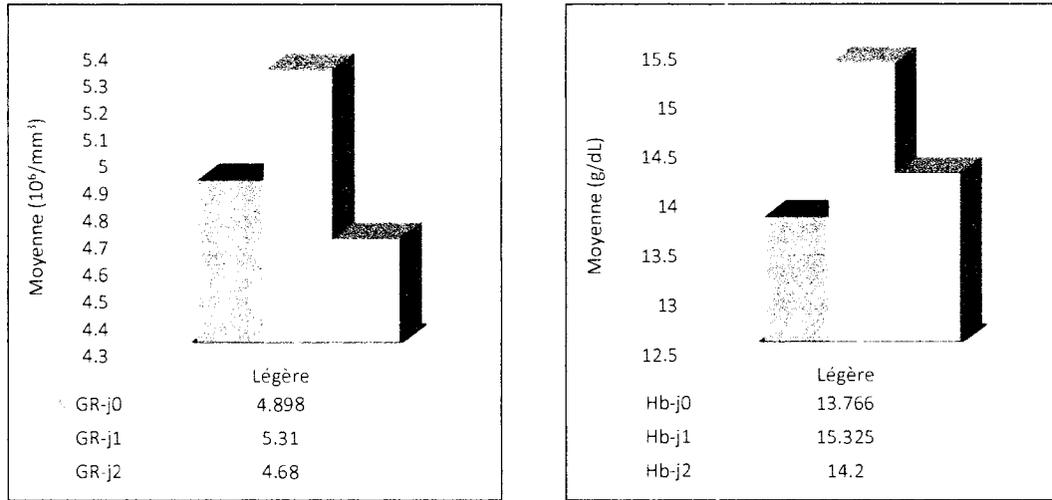


(c) Étude cinétique des Lymphocytes chez la forme modérée

FIGURE 3.9 – Étude cinétique des paramètres leucocytaires chez la forme modérée

Après l'étude cinétique des paramètres leucocytaires chez la forme modérée, on a remarqué que les GB, PNN suivent la même cinétique. Ils sont en diminution constante de  $j_0$  à  $j_2$  (de  $9,105 \cdot 10^3/mm^3$  à  $7,307 \cdot 10^3/mm^3$  pour les GB et de  $7,01 \cdot 10^3/mm^3$  à  $5,215 \cdot 10^3/mm^3$  pour les PNN). Les Lymphocytes augmentent significativement entre  $j_0$  et  $j_1$  (de  $1,508 \cdot 10^3/mm^3$  à  $1,625 \cdot 10^3/mm^3$ ) puis diminuent entre  $j_1$  et  $j_2$  (de  $1,625 \cdot 10^3/mm^3$  à  $1,523 \cdot 10^3/mm^3$ ).

• **Forme légère**

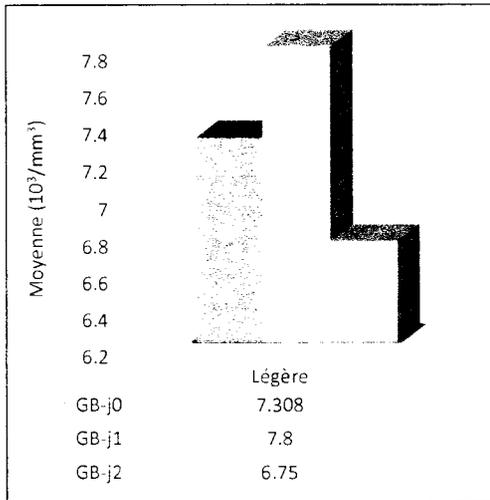


(a) Étude cinétique des GR chez la forme légère

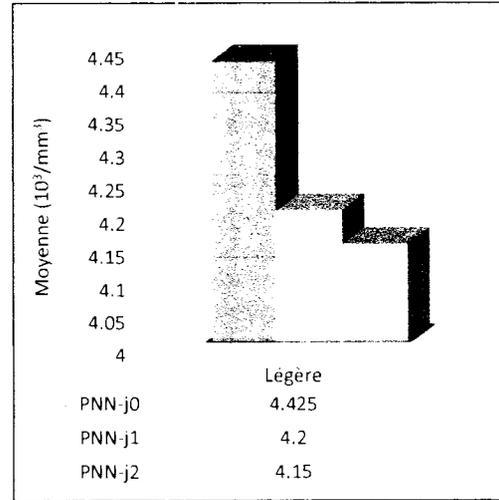
(b) Étude cinétique de l'Hb chez la forme légère

FIGURE 3.10 – Étude cinétique des paramètres érythrocytaires chez la forme légère

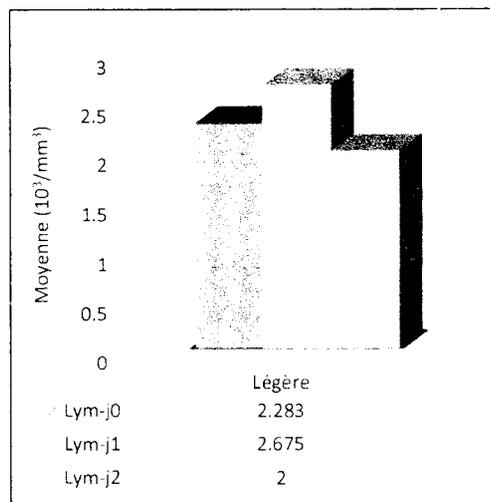
Après l'étude cinétique des paramètres érythrocytaires chez la forme légère, on a remarqué une augmentation des valeurs des GR et d'hémoglobine entre  $j_0$  et  $j_1$  (de  $4,898 \cdot 10^3/mm^3$  à  $5,31 \cdot 10^3/mm^3$  pour les GR et de  $13,766 \text{ g/dL}$  à  $15,325 \text{ g/dL}$  pour l'Hb) suivie de leur diminution entr  $j_1$  et  $j_2$  (de  $5,31 \cdot 10^3/mm^3$  à  $4,68 \cdot 10^3/mm^3$  pour les GR et de  $15,325 \text{ g/dL}$  à  $14,2 \text{ g/dL}$  pour l'Hb)



(a) Étude cinétique des GB chez la forme légère



(b) Étude cinétique des PNN chez la forme légère



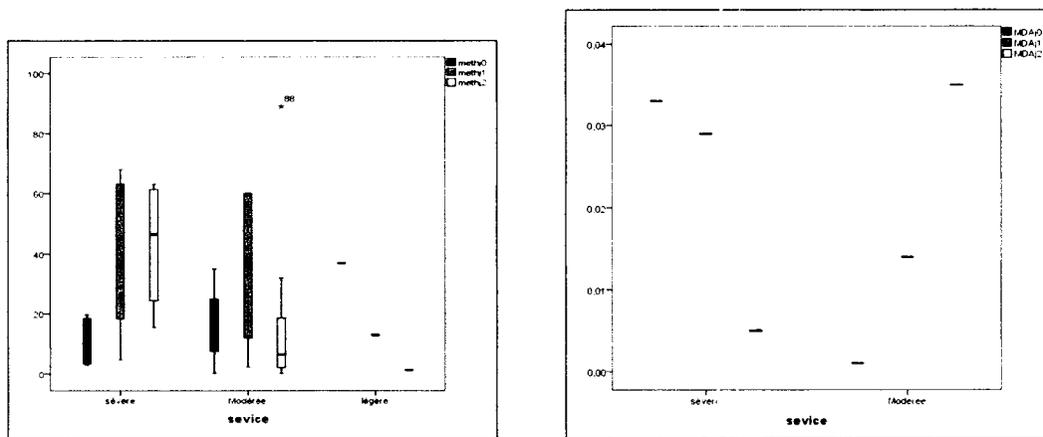
(c) Étude cinétique des Lymphocytes chez la forme légère

FIGURE 3.11 – Étude cinétique des paramètres leucocytaires chez la forme légère

Après l'étude cinétique des paramètres leucocytaires chez la forme légère, on a remarqué que les GB et lymphocytes suivent la même cinétique. Leurs valeurs augmentent entre  $j_0$  à  $j_1$  (de  $7,308 \cdot 10^3/mm^3$  à  $7,8 \cdot 10^3/mm^3$  pour les GB et de  $2,283 \cdot 10^3/mm^3$  à  $2,675 \cdot 10^3/mm^3$  pour les lymphocytes) puis diminuent entre  $j_1$  et  $j_2$  (de  $7,8 \cdot 10^3/mm^3$  à  $6,75 \cdot 10^3/mm^3$  pour les GB et de  $2,675 \cdot 10^3/mm^3$  à  $2 \cdot 10^3/mm^3$  pour les lymphocytes). Les PNN sont en constante diminution entre  $j_0$  et jusqu'à  $j_2$  (de  $4,425 \cdot 10^3/mm^3$  jusqu'à  $4,15 \cdot 10^3/mm^3$ ).

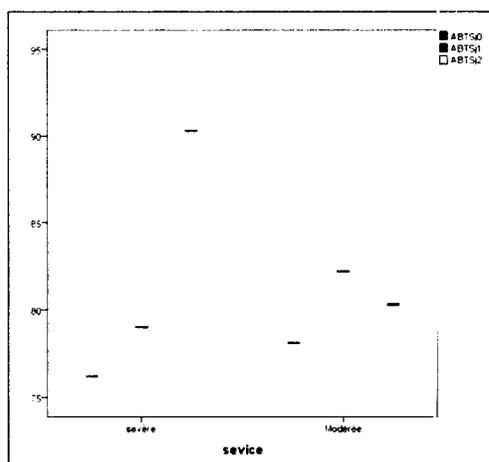
## 2. Autres paramètres

- Selon le sévérité



(a) Étude cinétique de la Mét-Hb chez les 3 formes (sévère/critique, modérée et légère)

(b) Étude cinétique de MDA chez les 2 formes (sévère/critique et modérée)



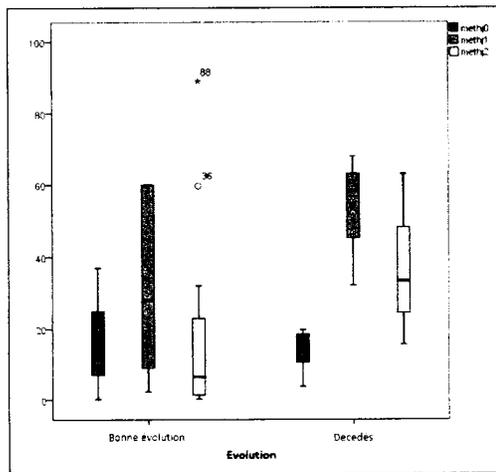
(c) Étude cinétique de l'ABTS chez les 2 formes (sévère/critique et modérée)

FIGURE 3.12 – Étude cinétique des paramètres du stress oxydatif chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution et décédé

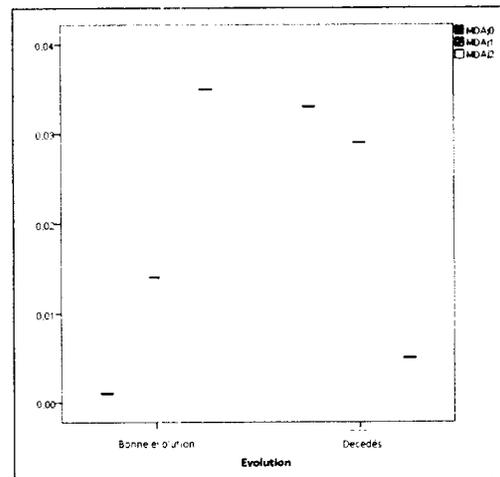
Après l'étude cinétique des paramètres du stress oxydant chez les malades des 3 formes, on a remarqué que la Mét-Hb chez la forme sévère/critique augmente progressivement entre  $j_0$  et  $j_1$  et reste augmentée entre  $j_1$  et  $j_2$ . Tandis que chez la forme modérée, elle augmente aussi entre  $j_0$  et  $j_1$  mais elle diminue d'une façon importante entre  $j_1$  et  $j_2$ . Alors que chez

la forme légère la Mét-Hb est en constante diminution. MDA et l'ABTS suit une cinétique opposée chez la forme sévère : MDA diminue progressivement de  $j_0$  et jusqu'à  $j_2$  tandis que l'ABTS augmente de  $j_0$  et jusqu'à  $j_2$ . Chez la forme modérée, MDA est en constante augmentation de  $j_0$  et jusqu'à  $j_2$  alors que l'ABTS augmente entre  $j_0$  et  $j_1$  puis diminue entre  $j_1$  et  $j_2$ .

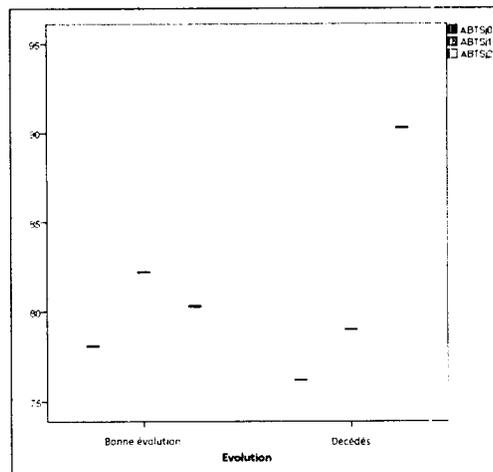
• Selon l'évolution



(a) Étude cinétique de la Mét-Hb selon l'évolution d'état des malades



(b) Étude cinétique de MDA selon l'évolution d'état des malades



(c) Étude cinétique de l'ABTS selon l'évolution d'état des malades

FIGURE 3.13 – Étude cinétique des paramètres du stress oxydatif chez la forme modérée

L'étude cinétique des paramètres du stress oxydant a montré que chez les malades avec une bonne évolution, la Mét-Hb et l'ABTS suivent la même cinétique. Leurs valeurs augmentent entre  $j_0$  et  $j_1$  puis diminuent entre  $j_1$  et  $j_2$ . Par contre, les valeurs de MDA augmentent progressivement entre  $j_0$  et jusqu'à  $j_2$ . Chez les malades décédés, la Mét-Hb augmente entre  $j_0$  et  $j_1$  ensuite diminue entre  $j_1$  et  $j_2$ . MDA et l'ABTS suivent à leur tour une cinétique opposée, MDA est en constante diminution de  $j_0$  et jusqu'à  $j_2$  tandis que l'ABTS augmente progressivement de  $j_0$  à  $j_2$ .

## V. Anomalies morphologiques observés à l'admission

### Lignée érythrocytaire

- Forme sévère/critique :

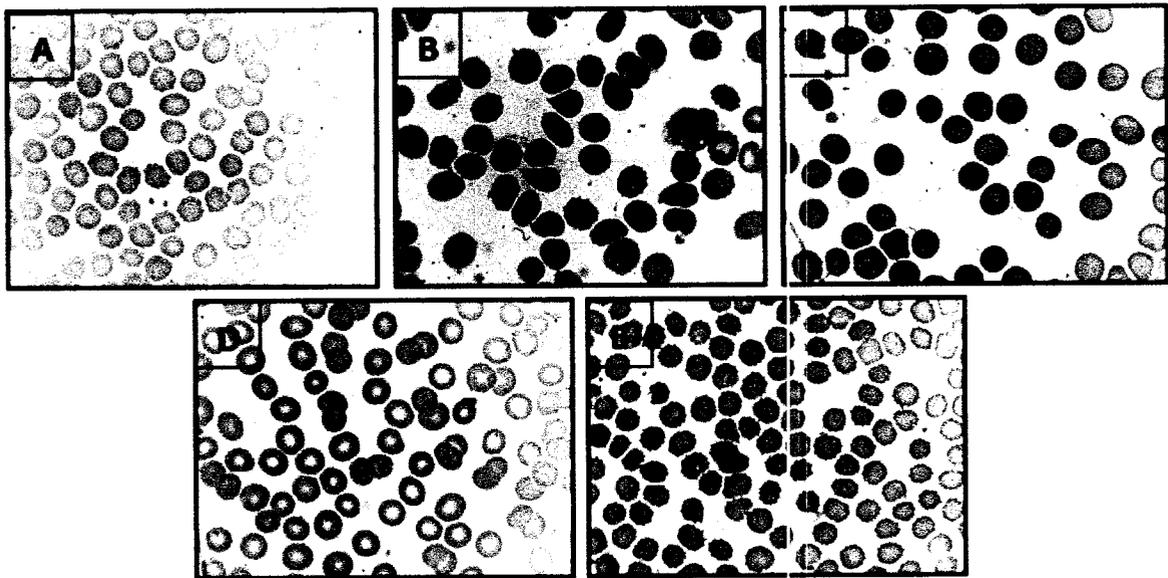


FIGURE 3.14 – Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme sévère de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GR.

- ▶ (A) : *acanthocytes*. (B) : *dacryocytes*. (C) : *sphérocytes*. (D) : *phénomène de rouleaux*. (E) : *échinocytes*.

- Forme modérée :

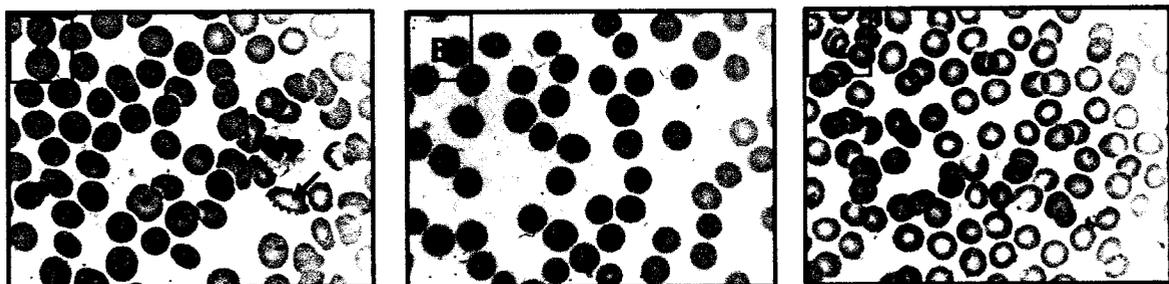


FIGURE 3.15 – Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme modérée de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GR.

- ▶ (A) : *acanthocytes*. (B) : *sphérocytes*. (C) : *phénomène de rouleaux*.

- Forme légère :

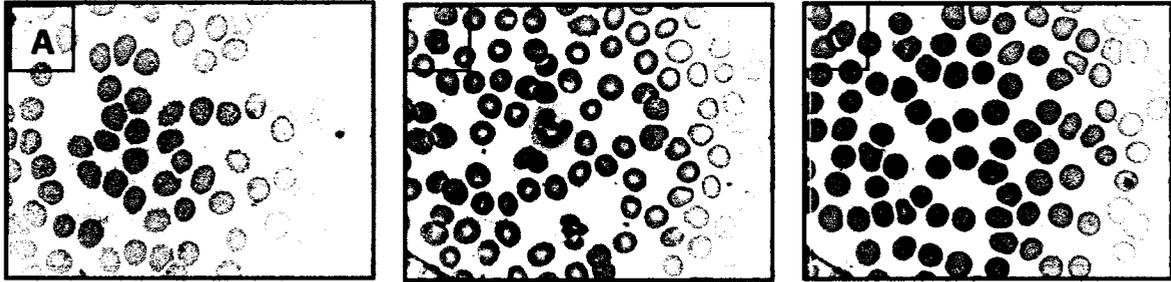


FIGURE 3.16 – Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme légère de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GR.

► (A) : *acanthocytes*. (B) : *phénomène de rouleaux*. (C) : *sphérocytes*.

L'examen du frottis sanguin périphérique au grossissement  $\times 100$  montre des anomalies morphologiques de GR chez les malades COVID-19 présentant une forme sévère (**Figure 3.14**), une forme modérée (**Figure 3.15**) et une forme légère (**Figure 3.16**). Bien que le degré des altérations morphologiques des GR en générale augmente avec la sévérité de l'infection, on a remarqué que les anomalies suivantes : phénomène de rouleaux, acanthocytes et sphérocytes sont présents chez les 3 formes mais avec un degré plus élevé chez la forme sévère/critique par rapport aux 2 autres formes (modérée et légère).

## Lignée leucocytaire

- Forme sévère/critique :

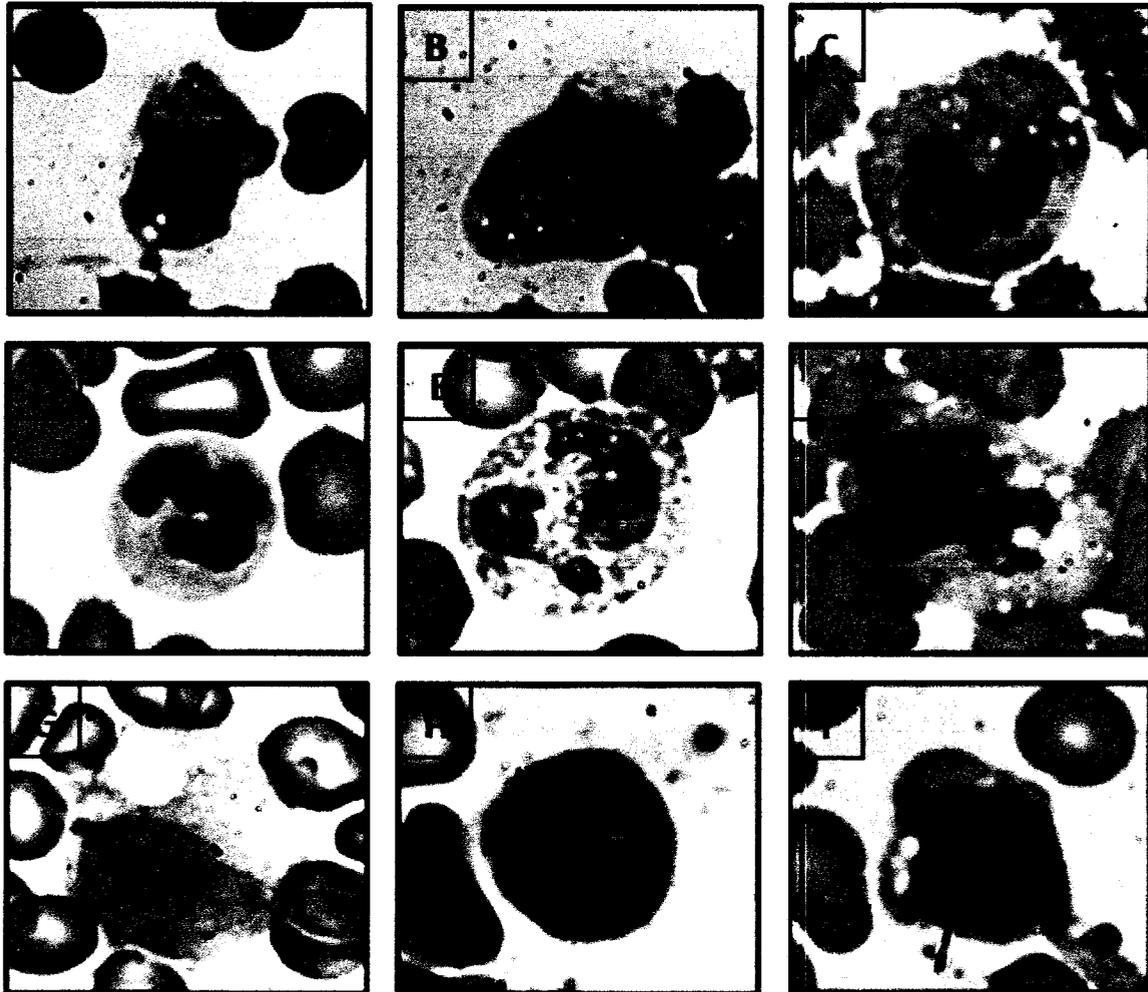


FIGURE 3.17 – Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme sévère de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GB.

- (A) : PNN vacuolée. (B), (C) : PNN vacuolée et à noyau non-segmenté. (D) : PNN à cytoplasme hypogranulaire (E) : PNN vacuolée non-ségmentée avec des granulations cytoplasmiques sombres et denses semblables à des granules « toxiques ». (F), (G) : monocytes vacuolés. (H) : lymphocyte activée avec cytoplasme bleu foncé. (I) : lymphocyte vacuolée

• Forme modérée :

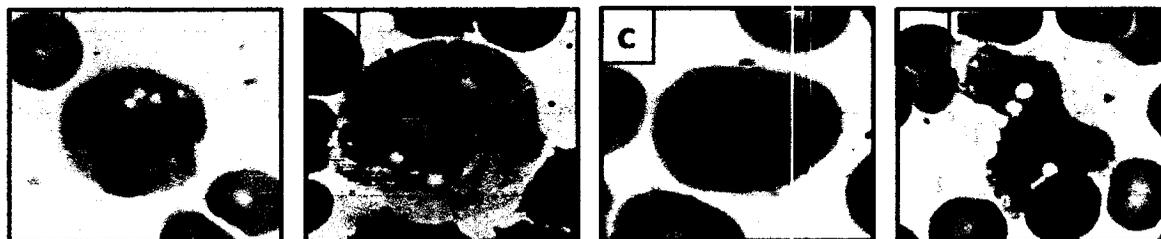


FIGURE 3.18 – Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme modérée de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GB.

► (A) : PNN vacuolée à noyau hyposégmenté. (B) : PNN vacuolée. (C) : lymphocyte activée à cytoplasme bleu foncé. (D) : monocyte vacuolée activée

• Forme légère :

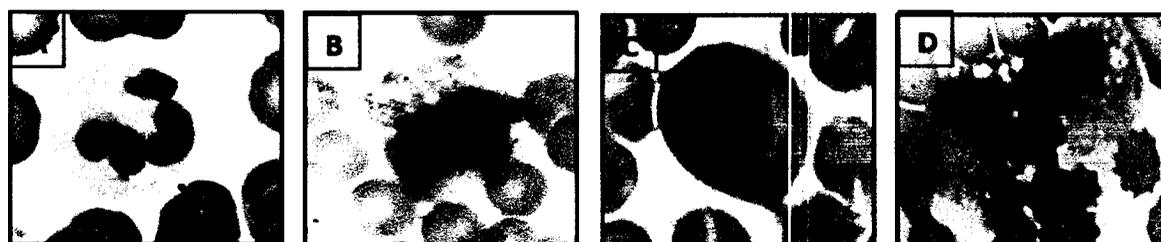


FIGURE 3.19 – Photos de frottis sanguins des malades COVID-19 présentant une forme légère de l'infection montrant des anomalies morphologiques des GB.

► (A) : PNN à cytoplasme hypogranulaire. (B) : monocyte vacuolée activée. (C) : lymphocyte activée à cytoplasme bleu foncé. (D) : PNN vacuolée à noyau non-ségmenté

Tableau 3.24 – Répartition de la population malade selon le taux de PNN vacuolées

Forme	Moyenne	Écart-type	P
Sévère/Critique	5,928	9,712	S-M = ,584
Modérée	4,990	5,685	M-L = ,014
Légère	2,085	2,501	S-L = ,346

L'examen des frottis sanguins montre des anomalies des GB aussi (**Figure 3.17**), (**Figure 3.18**), (**Figure 3.19**), mais nous n'avons pas constaté l'exacerbation de ces anomalies en fonction de la sévérité de l'infection sauf pour les PNN vacuolée. Ces dernières, leur taux augmente avec la sévérité de la maladie avec un taux de 5,92 % pour la forme sévère/critique, 4,99 % la forme modérée et 2,085 % pour la forme légère. Cependant, la différence n'est statistiquement significative qu'entre la forme modérée et légère ( $P < 0,05$ ).

Tableau 3.25 – Répartition des malades de la forme sévère/critique selon le taux de PNN vacuolées

Évolution	Moyenne	Écart-type	P
Bonne évolution	7,86	12,787	,966
Décédés	8,006	5,786	

D'après le **Tableau 3.25**, le taux moyen des PNN vacuolées chez les malades avec une bonne évolution (7,86 %) est diminué par rapport aux malades décédés (8,006 %). Notons que la différence dans le taux de PNN vacuolées entre les malades avec une bonne évolution et les décédés n'est pas statistiquement significative ( $P > 0,05$ ).

## VI. Perturbations et anomalies morphologiques induites expérimentalement

Nous voulons induire expérimentalement les mêmes perturbations de l'hémoglobine et les mêmes anomalies morphologiques des 2 lignées : GR et GE en mélangeant le plasma des malades COVID-19 avec le culot globulaire des sujets sains.

### 1. Les frottis sanguins des sujets de la population saine

- Avant incubation

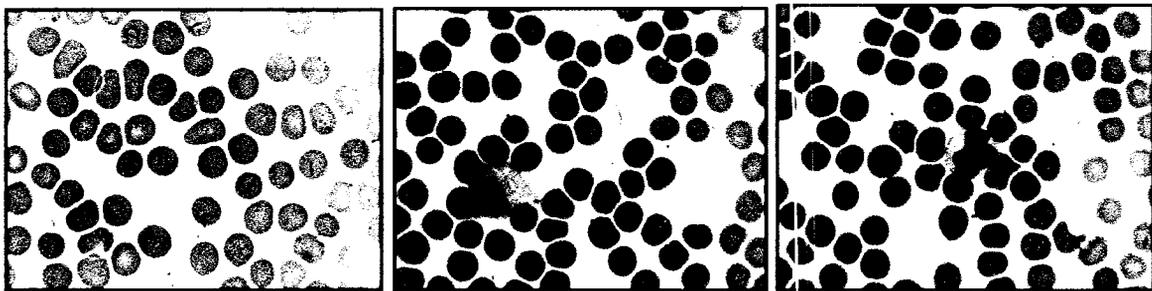


FIGURE 3.20 – Frottis sanguins de sujets de la population saine avant incubation avec plasma du malade COVID-19

- Après incubation

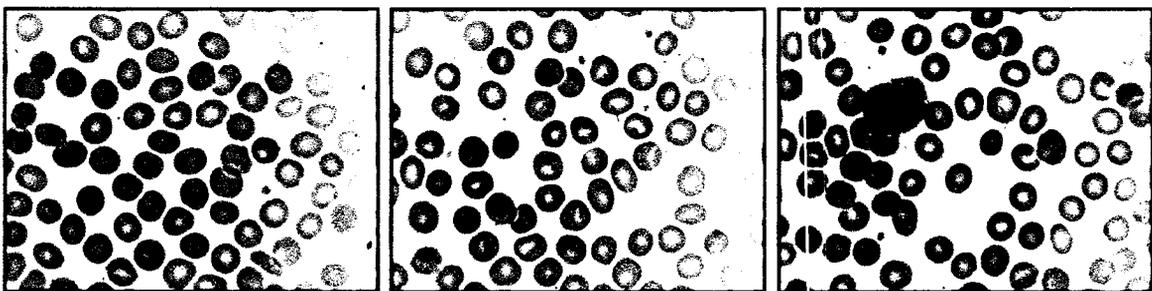


FIGURE 3.21 – Frottis sanguins de sujets de la population saine après incubation avec plasma du malade COVID-19

## 2. Anomalies morphologiques après 24 heures d'incubation

- Lignée érythrocytaire

- Forme sévère/critique :

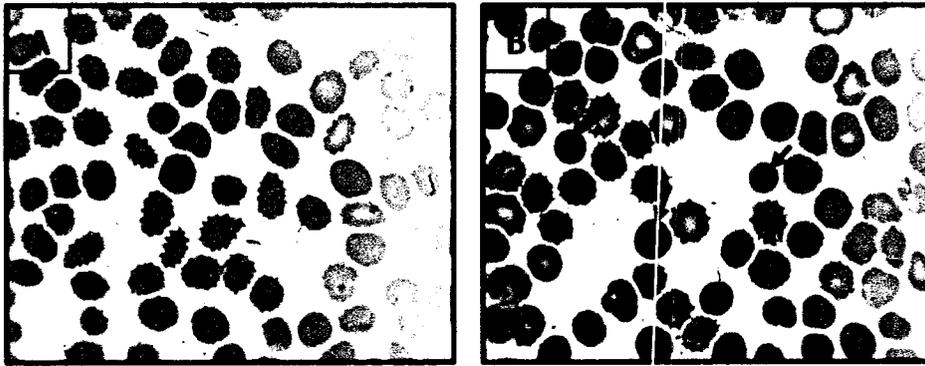


FIGURE 3.22 – Photos de frottis sanguins après mélange d'a plasma de malade COVID-19 forme sévère avec le culot globulaire d'un sujet sain

► (A) : *acanthocytes*. (B) : *sphérocytes*

- Forme modérée :

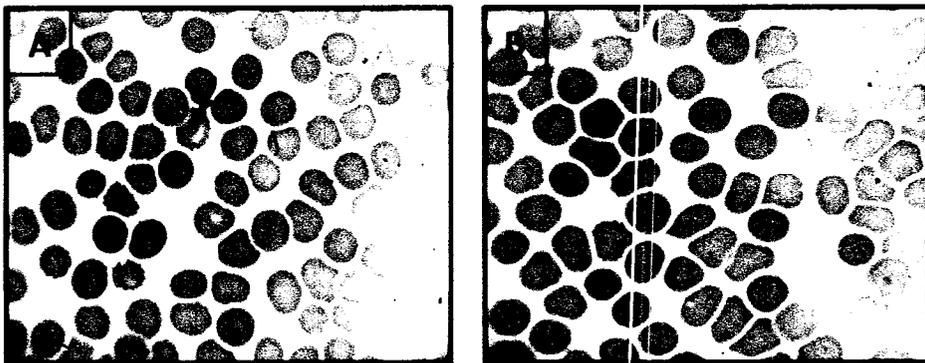


FIGURE 3.23 – Photos de frottis sanguins après mélange du plasma de malade COVID-19 forme modérée avec le culot globulaire d'un sujet sain

► (A) : *acanthocytes*. (B) : *sphérocytes*

– Forme légère :

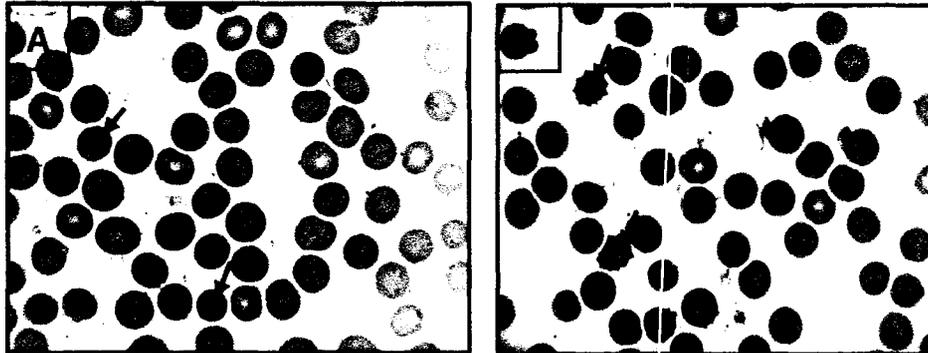


FIGURE 3.24 – Photos de frottis sanguins après mélange du plasma de malade COVID-19 forme légère avec des le culot globulaire d'un sujet sain

► (A) : *sphérocytes* (B) : *acanthocytes*

L'examen des frottis sanguins (réalisés après avoir mélangé le plasma des malades COVID-19 avec le culot globulaire de sujets sains et incubé pendant 24 heures) montre la présence en particulier des **acanthocytes** et des **sphérocytes** avec un degré plus fort chez la forme sévère/critique par rapport à la forme modérée et légère.

• Lignée leucocytaire

– Forme sévère/critique :

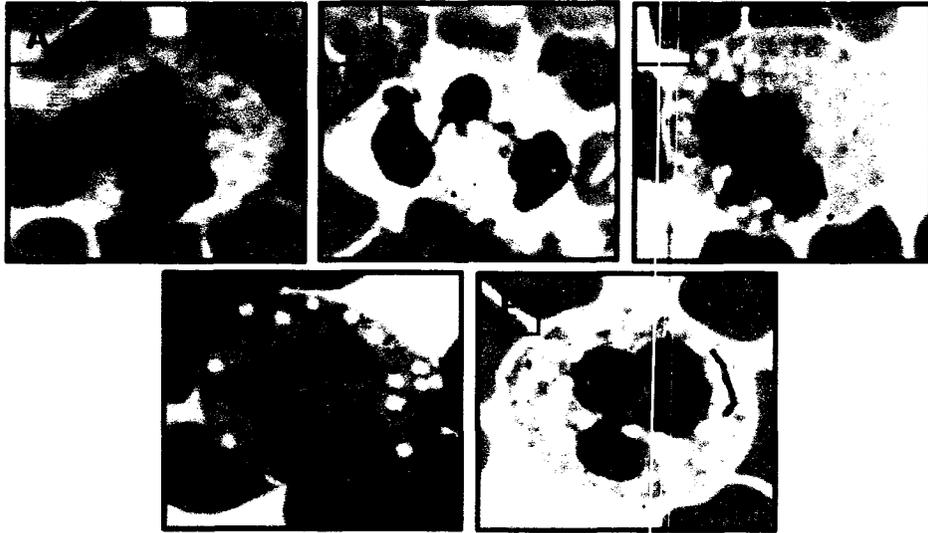


FIGURE 3.25 – Aspect morphologique des GB après mélange du plasma d’un malade COVID-19 d’une forme sévère avec le culot globulaire d’un sujet sain

► (A) : PNN à noyau non-segmenté. (B), (C), (E) : PNN vacuolée (D) : PNN vacuolée à noyau non-ségmenté.

– Forme modérée :



FIGURE 3.26 – Aspect morphologique des GB après mélange du plasma d’un malade COVID-19 d’une forme modérée avec le culot globulaire d’un sujet sain

► (A), (B) : PNN vacuolée. (C) : PNE vacuolée.

- Forme légère :

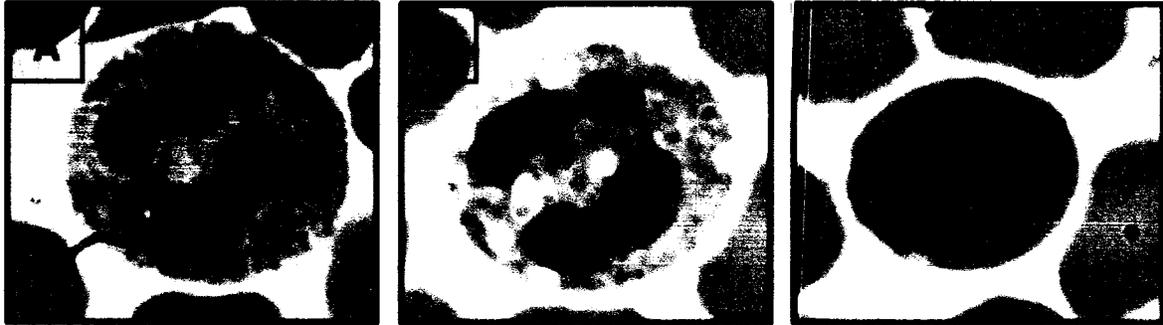


FIGURE 3.27 – Aspect morphologique des GB après mélange du plasma d'un malade COVID-19 d'une forme modérée avec le culot globulaire d'un sujet sain

► (A) : PNN à noyau hyposégmenté et à cytoplasme à granulations denses (B) : PNN vacuolée. (C) : Lymphocyte activée.

L'examen des frottis sanguins (réalisés après avoir mélangé le plasma des malades COVID-19 avec le culot globulaire de sujets sains et incubé pendant 24 heures) montre aussi la présence des anomalies de GB notamment les **PNN vacuolées** avec un degré plus important chez la forme sévère/critique

### 3. Méthémoglobinémie après 24 heures d'incubation

Nous avons incubé le plasma des malades COVID-19 avec le culot globulaire des sujets sains

Tableau 3.26 – Répartition de la population malade selon Taux de méthémoglobine après 24h d'incubation du plasma de malade COVID-19 avec le culot globulaire d'un sujet sain

Forme	Moyenne	Écart-type	P
Sévère/Critique	16,701	3,673	S-M = ,940
Modérée	17,416	4,179	M-L = ,649
Légère	16,796	5,364	S-L = ,550

Afin d'induire expérimentalement les mêmes perturbations d'Hb observées chez les malades COVID-19 à leur admission, nous avons incubé le plasma de ces malades avec le culot globulaire des sujets sains et nous avons obtenu les moyennes de méthémoglobine suivantes : 16,701 % pour la forme sévère/critique, 17,416 % pour la forme modérée et enfin 16,796 % pour la forme légère. Notons ainsi que la différence n'est pas statistiquement significative entre les 3 formes ( $P > 0,05$ ).

Tableau 3.27 – Répartition de la population malade selon Taux de méthémoglobine après 24h d'incubation du plasma de malade COVID-19 forme sévère avec le culot globulaire d'un sujet sain

Évolution	Moyenne	Écart-type	P
Bonne évolution	19,405	2,305	,098
Décédés	15,980	3,682	

Le taux moyen de la Mét-Hb après 24h d'incubation avec du plasma des malades de forme sévère mais avec une bonne évolution (19,405 %) est augmenté par rapport à celle des malades décédés (15,980 %). On note que la différence n'est pas statistiquement significative ( $P > 0,05$ ).

## VII. Étude de corrélation

### 1. Les corrélations chez la population malade totale

Tableau 3.28 – Corrélations chez la population malade totale à  $j_0$ ,  $j_1$  et  $j_2$  entre Mét-Hb et GR, Hb, GB, PNN, MDA et ABTS

Jour			GR	Hb	GB	PNN	MDA	ABTS	PNN. vacuolées
Mét-Hb	J-0	Coefficient de corrélation	-.072	-.110	.372**	.372**	.091	.116	.139
		P	.541	.340	.001	.001	.603	.566	.506
	J-1	Coefficient de corrélation	-.379	-.442*	.091	.228	.089	-.316	.156
		P	.134	.013	.626	.243	.850	.489	.802
	J-2	Coefficient de corrélation	-.023	.278	.112	.160	-.118	-.113	.323
		P	.944	.188	.611	.465	.762	.757	.677

À  $j_0$ , il y a une corrélation positive entre la Mét-Hb, GB et PNN respectivement avec un R de 0,372 et un P de signification 0,001 pour chacun.

À  $j_1$ , il y a une corrélation négative entre la Mét-Hb et Hb avec R de -0,442 et un P de signification de 0.013.

### 2. Les corrélations chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution/décédés

Tableau 3.29 – Corrélations chez la forme sévère/critique avec une bonne évolution/décédés à  $j_0$ ,  $j_1$  et  $j_2$  entre Mét-Hb et GR, Hb, GB, PNN, MDA et ABTS

Jour		F. sévère/critique		GR	Hb	GB	PNN	MDA	ABTS	PNN. vacuolées
Mét-Hb	J-0	Bonne évolution	Coefficient de corrélation	.217	.027	.518	.533	-.721*	-.570	.391
			P	.522	.937	.103	.091	.044	.181	.338
		Décédé	Coefficient de corrélation	.186	.297	-.251	-.258	-.011	.947*	-.191
			P	.542	.325	.408	.395	.983	.014	.651
	J-1	Bonne évolution	Coefficient de corrélation	-.942	-.605	-.668	-.840		1,000**	
			P	.058	.395	.332	.160			
		Décédé	Coefficient de corrélation	-.733*	-.835**	.011	.042	-.181	.890	-1,000**
			P	.038	.010	.980	.922	.771	.110	
	J-2	Bonne évolution	Coefficient de corrélation	.996	.765	.832	.544	-.521	-.038	
			P	.053	.445	.374	.634	.651	.976	
		Décédé	Coefficient de corrélation	-.428	-.624	.037	.059	.971	-.072	
			P	.472	.260	.953	.925	.152	.908	

A  $j_0$  et chez les malades d'une forme sévère/critique mais avec une bonne évolution, il y a une corrélation négative entre la Mét-Hb et MDA avec un R de -0,721 et un P de signification 0,044. Tandis que chez les malades décédés, il y a une corrélation positive entre la Mét-Hb et ABTS avec un R de 0,947 et un P de signification de 0,014.

A  $j_1$  et chez les malades avec une bonne évolution, il y a une corrélation positive entre la Mét-Hb et ABTS avec un R de 1,000. Or que chez les décédés, il y a une corrélation négative entre la Mét-Hb et GR et entre Mét-Hb et Hb avec des R de -0,733 et -0,865 respectivement, et un P de signification de 0,038 et 0,010 respectivement.

Tableau 3.30 – Corrélations chez la forme modérée et légère à  $j_0$ ,  $j_1$  et  $j_2$  entre Mét-Hb et GR, Hb, GB, PNN, MDA et ABTS

	Jour	Forme		GR	Hb	GB	PNN	MDA	ABTS
Mét-Hb	J-0	Modérée	Coefficient de corrélation	-.130	-.184	,491**	,449**	,264	,009
			P	,424	,238	,001	,003	,341	,980
		Légère	Coefficient de corrélation	,380	-,051	-,144	-,177	-,121	,381
			P	,279	,888	,692	,625	,879	,456
	J-1	Modérée	Coefficient de corrélation		-,260	,155	,474		
			P		,350	,580	,119		
		Légère	Coefficient de corrélation	,042	,018	,265	-,295		
			P	,958	,982	,735	,705		
	J-2	Modérée	Coefficient de corrélation	1,000**	,479	-,259	-,171		
			P		,083	,392	,576		
		Légère	Coefficient de corrélation	1,000**	1,000**	1,000**	1,000**		
			P						

Le **Tableau 3.30** montre que à  $j_0$  et chez la forme modérée, il y a 2 corrélations positives : une entre la Mét-Hb et GB avec un R de 0,491 et un P de signification de 0,001 et l'autre entre la Mét-Hb et PNN avec un R de 0,449 et un P de signification de 0,003.

A  $j_2$  chez la forme modérée, il y a une corrélation positive entre la Mét-Hb et GR avec un R de 1,000.

A  $j_2$  chez la forme légère, il y a 4 corrélations positives entre la Mét-Hb et GR, Hb, GB et PNN respectivement, et ce avec un R de 1,000 chacun

### 3. Autres corrélations

Tableau 3.31 – Autres corrélations détectées chez la forme modérée et légère à  $j_0$  et  $j_1$ 

	Forme	Paramètres		GR	Hb	GB	PNN	PNN. vacuolées
J-0	Modérée	ABTS	Coefficient de corrélation	.687*	.736**			
			P	.019	.010			
		Hb	Coefficient de corrélation					.831*
			P					.040
	Légère	MDA	Coefficient de corrélation	.863*				
			P	.027				
		ABTS	Coefficient de corrélation	.952*				
			P	.048				
J-1	Modérée	Hb	Coefficient de corrélation			-.655**	-.725**	
			P			.006	.008	

Le **Tableau 3.31** montre qu'à  $j_0$  et chez la forme modérée, il y a 3 corrélations positives : une entre l'ABTS et GR avec un R de 0,687 et un P de signification de 0,019 et l'autre entre l'ABTS et Hb avec un R de 0,736 et une P de signification de 0,010. La troisième corrélation est entre l'Hb et les PNN. vacuolées avec un R de 0,831 et un P de signification de 0,040.

A  $j_0$  et chez la forme légère, on a trouvé 2 corrélations positives, l'une est entre MDA et les GR avec un R de 0,863 et un P de 0,027. L'autre est entre l'ABTS et les GR avec un R de 0,952 et un P de 0,048.

A  $j_1$  et chez la forme modérée, l'Hb présente 2 corrélations négatives, une avec les GB (R = -0,665 et P = 0,006) l'autre avec les PNN (R = -0,725 et P = 0,008).

## CHAPITRE

### 4

## DISCUSSION

Il s'agit d'une étude de type série de cas, réalisée au niveau du laboratoire des urgences Médico-chirurgicales de CHU Frantz Fanon à Blida durant une période de 6 mois allant de Janvier 2021 au Juin 2021.

Elle a été réalisée sur 145 sujets dont 38 sujets sains (donneurs) et 107 patients ayant un diagnostic confirmé de COVID-19. Selon la sévérité de l'infection, ces patients ont été divisés en trois catégories :

- **Admis au service de soins intensifs** : 42 malades (dont les formes sévères et critiques)
- **Admis au service d'isolement** : 52 malades (formes modérées)
- **Envoyés à la maison avec des consignes** : 13 malades (formes légères)

Notre étude avait pour but d'identifier les perturbations hémobiologiques et les anomalies morphologiques des GR et des cellules sanguines au cours d'une infection par le SARS-CoV-2 ainsi d'évaluer le taux de méthémoglobine et le statut du stress oxydatif chez les patients atteints du COVID-19. De plus, faire la corrélation avec la sévérité et l'évolution de la maladie. Enfin, nous voulons induire expérimentalement les perturbations de l'hémoglobine et les anomalies morphologiques observées au paravent des cellules sanguines (GR et GB) en mélangeant le plasma des malades COVID-19 avec le culot globulaire des sujets sains pour mettre en évidence l'exacerbation du stress oxydatif.

L'âge moyen de nos patients était environ 59 ans avec une différence significative entre les trois formes : sévère/critique, modérée et légère, ainsi on a remarqué une nette prédominance

masculine notamment chez les formes sévères/critiques et modérées.

Tel que rapporté dans des méta-analyses de 59 études décrites par Pijls et al. le 4 Mai 2020, cette observation est conforme au fait que, en général, les maladies infectieuses des voies respiratoires sont plus graves chez les hommes et ont ensuite tendance à entraîner une mortalité plus élevée. Ainsi, en plus des différences de santé et de comorbidités entre les hommes et les femmes, les différences dans la façon dont le système immunitaire réagit à l'infection COVID-19 peuvent également jouer un rôle dans la pathogenèse et l'issue de la maladie. Semblable aux différences entre les sexes dans la réponse immunitaire, le système immunitaire change également avec l'âge. Le vieillissement est, entre autres, caractérisé par un état pro-inflammatoire chronique du système immunitaire avec une activation immunitaire innée persistante de bas grade qui peut augmenter les lésions tissulaires causées par des infections chez les personnes âgées. Le vieillissement est également associé à une prévalence élevée de comorbidités et à une diminution de la capacité de réserve des organes vitaux [91].

Parmi l'ensemble des malades de la forme sévère/critique (42 malades), 14 malades (soit 33,33 %) ont connu une bonne évolution d'état, alors que 28 malades (soit 66,66 %) ont décédé. Notons ainsi que les malades de la forme modérée et légère ont tous connu une bonne évolution.

L'analyse des paramètres érythrocytaires des sujets malades montre du nombre de GR et du taux d'hémoglobine diminue par rapport au sujets sains tandis que les valeurs de RDW sont élevées.

Concernant les paramètres leucocytaire, L'analyse des résultats montre une élévation du nombre globale des GB et des PNN et une diminution du nombre des lymphocytes de sujets malades par rapport aux sujets sains avec une différence statistiquement significative.

Au sein de la population malade (forme sévère, modérée, légère), nos résultats sont similaires à l'étude rapporté par Wang et al en Mai 2020 montrant que lors la progression de la maladie, le nombre de globule blanc (GB), les neutrophiles et la largeur de distribution des globules rouges (RDW) dans le groupe grave étaient sensiblement plus hauts que ceux dans le groupe modéré ( $P < 0,05$ ); pendant ce temps, le nombre de globule rouge (GR) et l'hémoglobine (Hb) dans le groupe grave étaient sensiblement inférieurs à ceux dans le groupe modéré ( $P < 0,05$ )[92].

Bien qu'une méta-analyse des études hétérogènes disponibles observées ait montré que dans les formes graves de COVID-19 par rapport à celles présentant des formes plus bénignes, les valeurs d'hémoglobine sont considérablement réduites [93].

Le lien physiopathologique possible entre l'anémie et la COVID-19 peut s'expliquer par ces raisons :

Premièrement, le SRAS-CoV-2 peut interagir avec les molécules d'hémoglobine sur les

érythrocytes via les récepteurs ACE2, CD147 et CD26. Cette interaction virus-hémoglobine va amener le virus à attaquer l'hème sur la chaîne 1-bêta de l'hémoglobine et provoquer une hémolyse. Deuxièmement, le SRAS-CoV-2 peut imiter l'action de l'hepcidine qui augmente la ferritine circulante et tissulaire (affectant principalement le foie, la rate, la moelle osseuse et les muscles), tout en induisant une carence en fer sérique et un manque d'hémoglobine par conséquent. L'hyperferritinémie qui en résulte donnera lieu à une ferroptose, avec un stress oxydatif élevé et une lipoperoxydation qui peuvent précipiter la sur-réponse inflammatoire et entraîner une issue sévère de la maladie [94].

Il a été prouvé que de nombreuses infections virales respiratoires, y compris COVID-19, provoquent la mort des cellules infectées, l'activation de la réponse immunitaire innée et la sécrétion de cytokines inflammatoires. Tous ces processus sont associés au développement de ce qu'on appelle un stress oxydant. Ce dernier contribue de manière importante à la pathogenèse de ces infections virales. Il provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libres notamment lors de l'oxydation des lipides. Ces effets sont particulièrement critiques pour les globules rouges, qui peuvent devenir dysfonctionnels [56].

Évaluer le statut de stress oxydant chez des patients atteints du COVID-19 apparaît donc comme ayant une utilité certaine afin de comprendre le mécanisme par lequel le stress oxydant se réagit et leur rôle dans l'évolution et la sévérité de la maladie. Pour cela, nous avons mesuré trois marqueurs biologiques ; méthémoglobine, la peroxydation lipidique à l'acide thiobarbiturique (test à TBARS) et le pouvoir antioxydant total (Test à ABTS).

La Met-Hb chez les trois formes est supérieur à la valeur de référence ( $< 2\%$ ) avec des moyennes qui s'accroissent en fonction de la sévérité de l'infection. Ainsi que la totalité des malades de la forme sévère/critique avec une bonne évolution ont un taux de Met-Hb qui ne dépasse pas 50 %. Or que chez les malades décédés, plus de 28% des malades ont un taux qui excède les 50%.

L'augmentation de la production de méthémoglobine, même si statistiquement insignifiante, semblait suivre la progression de la maladie. Ce résultat a été observé dans de nombreux cas rapportés. Une telle augmentation de la méthémoglobine pourrait s'expliquer de différentes manières :

- l'exacerbation du stress oxydatif induit par le SRAS-CoV-2 provoque une altération du métabolisme des globules rouges, notamment de la glycolyse et du système redox. Cela peut perturber l'équilibre  $Fe^{+2}/Fe^{+3}$  dans l'hémoglobine.
- il a été démontré que les nitrite d'oxyde augmentent de façon significative, en repos

à l'hypoxie, au cours des infections et les sepsis. Le NO peut convertir  $Fe^{+2}$  de l'hémoglobine en  $Fe^{+3}$  en la transformant en méthémoglobine.

- l'utilisation de la chloroquine et de l'hydroxychloroquine peut induire sa production principalement chez les patients avec un déficit en G6PD.

Palmari et al, ont illustré la cinétique du taux de méthémoglobine, dans laquelle l'élévation de la méthémoglobine à un pic après quelques jours d'hospitalisations puis la diminution en réponse au traitement. Cette étude s'accorde avec les résultats qu'on a trouvé chez les patients de la forme modérée. Alors que les taux de méthémoglobine chez la forme sévère/critique restent augmentés et la majorité des malades évoluent vers la mort. Chez la forme légère la cinétique est en constante diminution [95].

D'après nos résultats les valeurs de MDA à l'admission ne sont pas vraiment corrélées avec la sévérité de la maladie. Les valeurs les plus élevés ont été trouver chez la forme sévère/critique. Cependant, les valeurs chez la forme légère été plus élevé que la forme modérée. Cette discordance peut être expliquer par le manque d'information sur le début de la maladie.

L'ABTS à son tour s'accroissent en fonction de la sévérité de l'infection.

MDA et l'ABTS suit une cinétique opposée chez la forme sévère : MDA diminue progressivement de  $J_0$  et jusqu'à  $J_2$  tandis que l'ABTS augmente. Chez la forme modérée, MDA est en constante augmentation alors que l'ABTS augmente puis diminue.

Dans une étude menée par Pincemail et al. Un effondrement important des défenses antioxydantes a été détecté chez les patients COVID-19.

En plus, notre étude identifie et décrit des changements morphologiques importants dans les cellules sanguines périphériques (GR et GB) des patients COVID-19 quelle que soit leur forme : sévère/critique, modérée ou légère. On a constaté que le degré de ces altérations morphologiques augmente avec la sévérité de l'infection.

Nous notons deux niveaux d'anomalies ;

- Le premier, la relation apparente entre les lésions morphologiques des globules rouges des patients COVID-19 et l'évolution de la maladie en association avec la production de méthémoglobine même si la différence n'était pas statistiquement différente.
- Et le second, la capacité du plasma des patients COVID-19 à induire les mêmes blessures après incubation avec des globules rouges sains.

En fait, l'altération de la morphologie des globules rouges pourrait être liée à la théorie actuellement proposée par THOMAS et al, selon laquelle ils détectent, après infection par le SRAS-CoV2, l'augmentation du stress oxydatif des protéines membranaires et le dysfonc-

tionnement de l'homéostasie lipidique affectant ainsi la déformabilité des globules rouges et contribuent potentiellement à la complication de la thrombose [39].

Parmi les anomalies des GB qu'on a fréquemment observer la présence des polynucléaires neutrophiles vacuolées, et on a noté que l'exacerbation de cette anomalie est en fonction de la sévérité de l'infection

Grange et al, montre que la présence de PNN vacuolées dans les frottis sanguins de patients infectés semble être associée à une croissance massive de l'agent infectieux et constituer un symptôme très précoce de septicémie mettant rapidement en jeu le pronostic vital [96].

L'étude de corrélation réalisée entre méthémoglobine et les autres paramètres montre une corrélation positive entre la Mét-Hb, GB et PNN. Cette corrélation peut être expliquer par le faite que l'exposition de l'organisme à un agent infectieux conduira sans doute à l'augmentation des défenses immunitaires par recrutement de plusieurs types cellulaires dont les neutrophiles qui jouent un rôle clé dans la réaction du corps face au COVID-19. Une fois dans le tissu infecté, les neutrophiles sont activés et libèrent des radicaux libres qui détruisent l'agent infectieux. L'exacerbation de ces radicaux libres provoque une altération du métabolisme des globules rouges, notamment la glycolyse et le système redox. Cela peut perturber l'équilibre  $Fe^{+2}/Fe^{+3}$  dans l'hémoglobine et donc conduit à la formation de méthémoglobine [81, 82].

Un développement anticorrélé entre la Mét-Hb et l'Hb chez un patient COVID-19 a été rapporté, conformément à la voie décrite par Hare et al. d'une augmentation de Mét-Hb induite par le NO causée par l'anémie. Le rôle de la Mét-Hb en tant que marqueur du stress anémique a également été validé dans une étude portant sur les modifications de la Mét-Hb chez des patients subissant une chirurgie cardiaque. Alors que « l'anémie inflammatoire » est associée à la méthémoglobinémie, l'anémie ferriprive semble être un facteur de risque supplémentaire de méthémoglobinémie acquise en augmentant le stress oxydatif des globules rouges [97].

Il y aussi une corrélation négative entre l'hémoglobine et GB qui peut s'expliquer par une anémie inflammatoire :

- Les cytokines dérivées des macrophages en cas d'infection et d'états inflammatoires contribuent à la diminution de la production d'EPC et à l'altération du métabolisme du fer en augmentant la synthèse hépatique de l'hepcidine.
- L'augmentation de l'hepcidine inhibe l'absorption et le recyclage du fer et conduisant à la séquestration du fer.

Une survie légèrement raccourcie des globules rouges, probablement due à une augmentation de l'hémiophagocytose par les macrophages, survient chez les patients atteints de maladies inflammatoires [98].

Plusieurs limites ont été rencontrées au cours de la réalisation de notre travail :

- Notamment en termes de taille de l'échantillon,
- Manque des informations récoltées par difficulté d'accès aux données qui obstruait de compléter l'étude clinique,
- La difficulté d'avoir les prélèvements de chaque malade pendant toute la période d'hospitalisation pour faire le suivi,
- La possibilité d'avoir des formes asymptomatiques chez la population saine qui peut affecter légèrement la validité des résultats,
- La nature récente de la pathologie et la pauvreté de la bibliographie ont constitué une limite pour une meilleure comparaison des résultats.

## CONCLUSION

De la pandémie Covid-19, nous semblons peiner à prendre la mesure. Son arrivée est soudaine, ses effets incertains et ses conséquences à long terme encore imprévisibles.

La COVID-19 a pris de vitesse par sa complexité et sa prolifération et mis l'expertise scientifique en demeure de réagir très vite à une crise qui a surpris par son ampleur.

Le SARS-CoV-2 attaque en priorité les cellules du système respiratoire, jusqu'au plus profond des poumons, et le syndrome de détresse respiratoire aigu qui emporte bien des malades en est la preuve. Cependant, le nouveau coronavirus ne se limite pas à ces organes, et l'on sait désormais qu'il touche bien d'autres endroits de l'organisme comme le cerveau et les nerfs, le foie, les reins, le système digestif... Le cœur et les vaisseaux sanguins ne sont pas épargnés, et même le sang semble perturbé par le SARS-CoV-2.

A travers les recherches menées lors de cette étude, nous avons pu conclure que la maladie de COVID-19 provoque une série de changements au niveau sanguin, principalement représentés par l'élévation du taux de méthémoglobine avec une dynamique suivant la progression de la maladie.

Un déséquilibre des paramètres érythrocytaires et leucocytaires fortement corrélé à l'augmentation du méthémoglobine.

De plus, la gravité de ces changements est directement proportionnelle à la sévérité de la maladie.

La présence des altérations morphologiques importantes des cellules sanguines des patients COVID-19 en association avec la production du stress oxydatif.

L'exacerbation de ces altérations est en fonction de la sévérité de l'infection.

D'après les résultats de notre étude il est recommandé : de doser la méthémoglobine qui est rarement évoquée et utiliser le bleu de méthylène comme traitement dans les cas qui l'exigent. Aussi l'utilisation des antioxydants tel que vitamine A, E, D, B6, et B12, folate, zinc en particulier la vitamine C.

Ce travail peut constituer une base pour de futurs travaux. Dans une perspective avenir, il est préférable de :

- Augmenter la taille de l'échantillon à étudier.
- Examiner en détail le lien entre les niveaux de méthémoglobine et les résultats cliniques chez les patients atteints de COVID-19.
- Vérifier l'implication du stress oxydatif dans les différentes perturbations qu'on a observées.
- Faire une méta-analyse des études récentes.
- La compréhension des manifestations hématologiques du SRAS-CoV-2 est encore à un stade évolutif. Pour parvenir à une conclusion définitive concernant la spécificité et la fiabilité de ces effets, nous avons besoin d'une évaluation dans des études plus importantes.

ANNEXE

A

PROTOCOLE DU TEST À TBARS

**Préparation des solutions**

- TCA à 30 %

$30g \rightarrow 100ml$

$x \rightarrow 15ml$

$x = 4,5 g$  dissout dans  $15ml$  d'eau distillée

- NaOH à 0,05 M

$m = C \times V \times M$

$m = 0,05 \times 0,010 \times 39,997$

$m = 20mg$  dissout dans l'eau distillée

- TBA à 1%

$1g \rightarrow 100ml$

$x \rightarrow 10ml$

$x = 100mg$  dissout dans  $10ml$  de NaOH à  $0,05M$

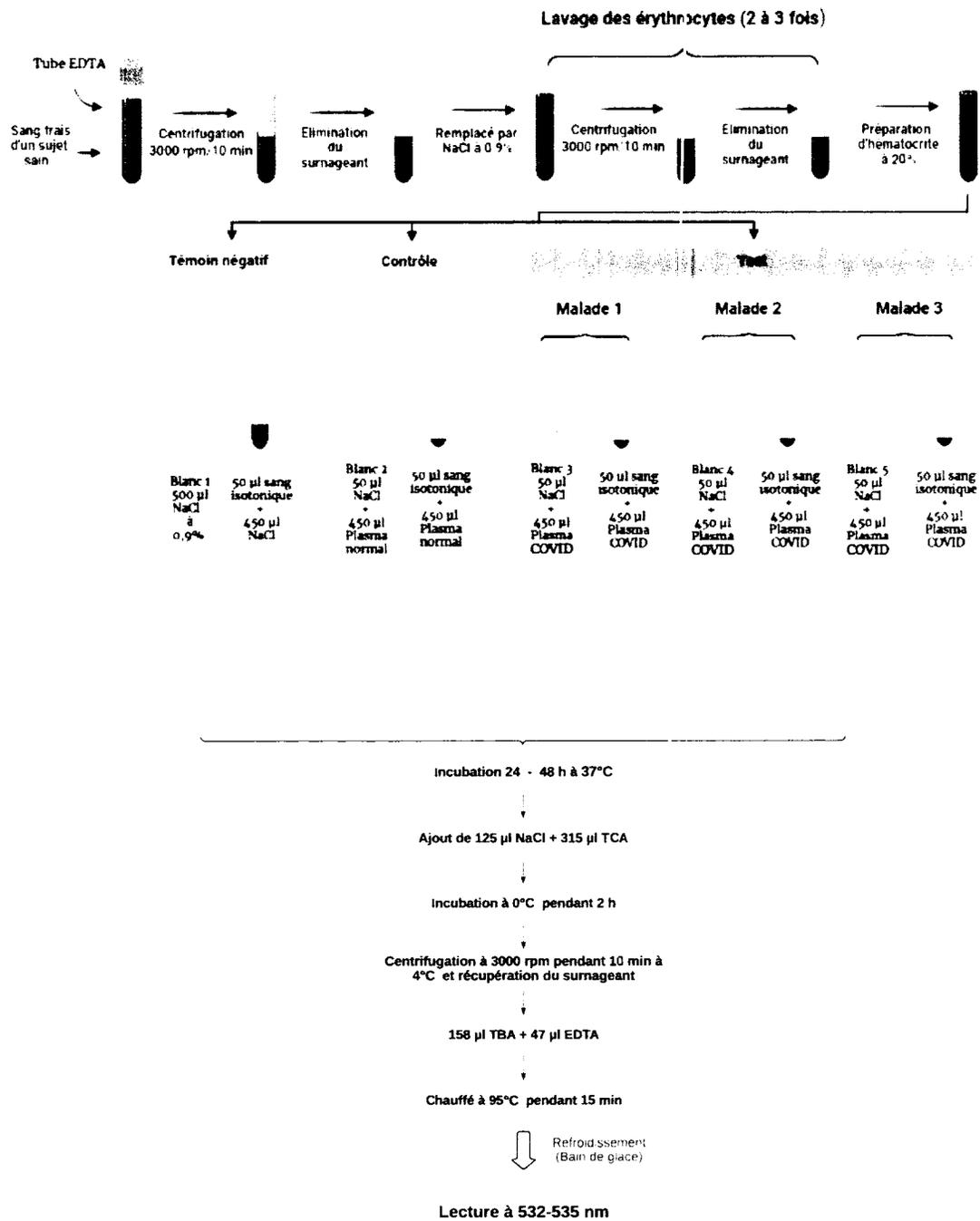
- EDTA à 0,1 mol/l

$m = C \times V \times M$

$m = 0,1 \times 0,002 \times 292,24$

$m = 58,44mg$  dissout dans  $2ml$  d'eau distillée

## Protocole du test à TBARS



ANNEXE

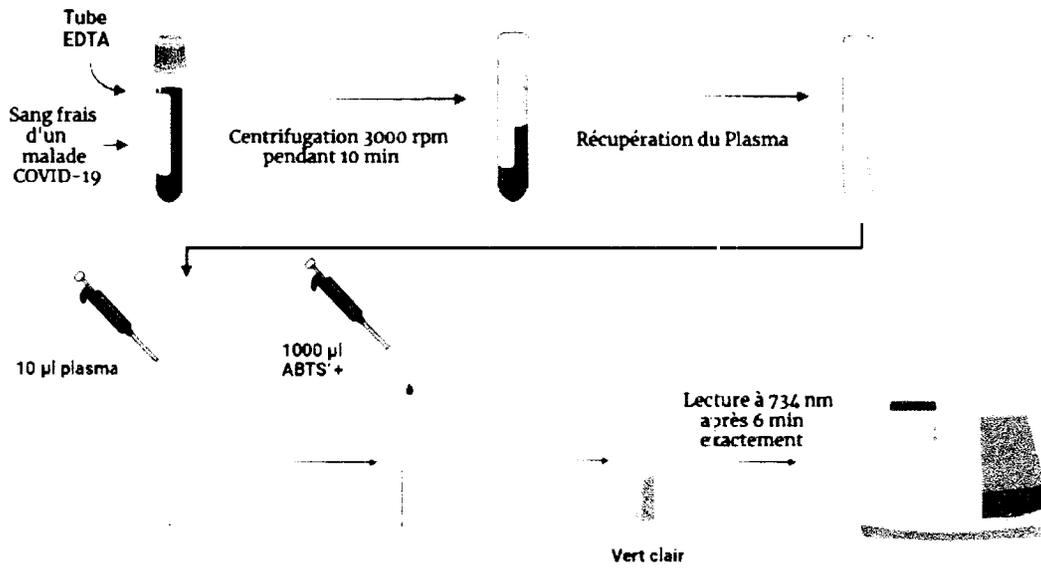
B

PROTOCOLE DU TEST À ABTS

**Préparation des solutions**

- Solution d'ABTS à  $7mM$  dans l'eau distillée
- Préparation du persulfate de potassium à  $2.45 mM$  ( $MM = 270,322 g/mol$ )
- Préparation de la solution  $ABTS^+$  : 2 volumes de solution d'ABTS + 1 volume persulfate de potassium  $\Rightarrow ABTS^+$  (bleu vert); on laisse le mélange au repos et à l'obscurité à température ambiante pendant 12-16h.

## Protocole du test à ABTS



Created in BioRender.com 

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] Coronavirus disease (covid-19).
  - [2] Épidémiologie et caractéristiques cliniques de covid-19 : une revue de la littérature actuelle. *Journal de virologie clinique*, 127 :104357.
  - [3] Erfan et Desideri Lorenzo Ferro et Tovani-Palone Marcos Roberto Khawaja, Uzzam Ahmed et Shamsoddin. Infection des globules rouges par le sars-cov-2 : nouvelle preuve. *Einstein (São Paulo)*, 19.
  - [4] Hyung Muk Choi, Soo Youn Moon, Hyung In Yang, and Kyoung Soo Kim. Understanding viral infection mechanisms and patient symptoms for the development of covid-19 therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4) :1737, 2021.
  - [5] Wentao Ni, Xiuwen Yang, Deqing Yang, Jing Bao, Ran Li, Yongjiu Xiao, Chang Hou, Haibin Wang, Jie Liu, Donghong Yang, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ace2) in covid-19. *Critical Care*, 24(1) :1–10, 2020.
  - [6] Marton Olbei, Isabelle Hautefort, Dezso Modos, Agatha Treveil, Martina Poletti, Lejla Gul, Claire D Shannon-Lowe, and Tamas Korcsmaros. Sars-cov-2 causes a different cytokine response compared to other cytokine storm-causing respiratory viruses in severely ill patients. *Frontiers in Immunology*, 12 :381, 2021.
  - [7] Qing Ye, Bili Wang, and Jianhua Mao. The pathogenesis and treatment of the cytokine storm in covid-19. *Journal of infection*, 80(6) :607–613, 2020.
  - [8] Carlos André Prauchner. Oxidative stress in sepsis : pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy. *Burns*, 43(3) :471–435, 2017.
-

- 
- [9] Alain Favier. Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10) :863–832, 2003.
- [10] Mireille Laforge, Carole Elbim, Corinne Frère, Miryana Hénadi, Charbel Massaad, Philippe Nuss, Jean-Jacques Benoliel, and Chrystel Becker. Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in covid-19. *Nature Reviews Immunology*, 20(9) :515–516, 2020.
- [11] Imane Jamai Amir, Zina Lebar, et al. Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio*, 31(619) :15, 2020.
- [12] Futura Science. Globule rouge.
- [13] Hématocell. Physiologie du globule rouge.
- [14] Elsevier Masson. *Hématologie et transfusion sanguine*.
- [15] Bensakhria, A . Rôle de la membrane erythrocytaire.
- [16] Tout sur la transfusion. Membrane du globule rouge.
- [17] Hélène Guizouarn, Sonia Martial, and Franck Borgese. Propriétés inattendues de l'échangeur anionique du globule rouge : la leçon des poissons. *médecine/sciences*, 22(10) :824–825, 2006.
- [18] Wikipedia contributors. Hémoglobine.
- [19] Structure fonction de la molécule d'hémoglobine.
- [20] Quelle est saturation de l'oxygène ?
- [21] Oxygen–hemoglobin dissociation curve.
- [22] L. Cooling. *The RBC as a Physiological Object*, pages 3049–3067. 12 2014.
- [23] Wikipédia. Hémoglobine — wikipédia, l'encyclopédie libre, 2021. [En ligne : Page disponible le 22-février-2021].
- [24] Virginia Pretini, Mischa H Koenen, Lars Kaestner, Marcel HAM Fens, Raymond M Schiffelers, Marije Bartels, and Richard Van Wijk. Red blood cells : chasing interactions. *Frontiers in physiology*, 10 :945, 2019.
- [25] OV Kosmachevskaya, EI Nasybullina, VN Blindar, and AF Topunov. Binding of erythrocyte hemoglobin to the membrane to realize signal-regulatory function. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 55(2) :83–98, 2019.
- [26] Pompe sodium-potassium.
- [27] Wikipédia. Acide 2,3-bisphosphoglycérique — wikipédia, l'encyclopédie libre, 2021. [En ligne : Page disponible le 10-septembre-2021].
- [28] Imane Jamai Amir, Zina Lebar, Ghita yahyaoui, and Mustapha Mahmoud. Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio*, 31(619) :15–20, 2020.
-

- 
- [29] Coronavirus et Covid-19, url = <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/coronavirus-sars-cov-et-mers-cov>, language = fr, urldate = 2021-07-19, journal = Inserm - La science pour la santé,.
- [30] Chris R Triggler, Devendra Bansal, Hong Ding, Md Mazharul Islam, Elmoubashar Abu Baker Abd Farag, Hamad Abdel Hadi, and Ali A Sultan. A comprehensive review of viral characteristics, transmission, pathophysiology, immune response, and management of sars-cov-2 and covid-19 as a basis for controlling the pandemic. *Frontiers in immunology*, 12 :338, 2021.
- [31] V Bonny, A Maillard, C Mousseaux, L Plaçais, and Q Richier. Covid-19 : physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. *La Revue de médecine interne*, 41(6) :375–389, 2020.
- [32] Matthew E. Manifestations cliniques du sars-cov-2. 14-02-2021.
- [33] Ministère de la santé en algérie.
- [34] Quels sont les différents types de vaccins contre la covid-19 et comment fonctionnent-ils ?
- [35] Loïc Mangin. Les effets du SARS-CoV-2 sur le sang.
- [36] Rami M. Elshazli, Eman A. Toraih, Abdelaziz Elgaml, Mohammed El-Mowafy, Mohamed El-Mesery, Mohamed N. Amin, Mohammad H. Hussein, Mary T. Killackey, Manal S. Fawzy, and Emad Kandil. Diagnostic and prognostic value of hematological and immunological markers in COVID-19 infection : A meta-analysis of 6320 patients. *PLOS ONE*, 15(8) :e0238160, August 2020.
- [37] Uzzam Ahmed Khawaja, Erfan Shamsoddin, Lorenzo Ferro Desideri, and Marcos Roberto Tovani-Palone. Infection of red blood cells by sars-cov-2 : new evidence. *Einstein (São Paulo)*, 19, 2021.
- [38] Wentao Ni, Xiuwen Yang, Deqing Yang, Jing Bao, Ran Li, Yongjiu Xiao, Chang Hou, Haibin Wang, Jie Liu, Donghong Yang, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ace2) in covid-19. *Critical Care*, 24(1) :1–10, 2020.
- [39] Tiffany Thomas, Davide Stefanoni, Monika Dzieciatkowska, Aaron Issaian, Travis Nermkov, Ryan C Hill, Richard O Francis, Krystalyn E Hudson, Paul W Buehler, James C Zimring, et al. Evidence of structural protein damage and membrane lipid remodeling in red blood cells from covid-19 patients. *Journal of proteome research*, 19(11) :4455–4469, 2020.
-

- 
- [40] Angelo D'Alessandro, Monika Dzieciatkowska, Travis Nerakov, and Kirk C Hansen. Red blood cell proteomics update : is there more to discover? *Blood Transfusion*, 15(2) :182, 2017.
- [41] Irena Cosic, Drasko Cosic, and Ivan Loncarevic. Rrm prediction of erythrocyte band3 protein as alternative receptor for sars-cov-2 virus. *Applied Sciences*, 10(11) :4053, 2020.
- [42] PATRICK G Gallagher. Hemolytic anemias : red blood cell membrane and metabolic defects. *Goldman-Cecil Medicine. 25th ed. Philadelphia, PA : Elsevier Saunders*, 2016.
- [43] Esmail Mortaz, Majid Malkmohammad, Hamidreza Jamaati, Parisa Adimi Naghan, Seyed MohamadReza Hashemian, Payam Tabarsi, Maohammad Varahram, Hamidreza Zaheri, Efsun Gonca Uğur Chousein, Gert Folkerts, et al. Silent hypoxia : higher no in red blood cells of covid-19 patients. *BMC pulmonary medicine*, 20(1) :1-6, 2020.
- [44] Mark J Cameron, Jesus F Bermejo-Martin, Ali Danesh, Matthew P Muller, and David J Kelvin. Human immunopathogenesis of severe acute respiratory syndrome (sars). *Virus research*, 133(1) :13-19, 2008.
- [45] Dominique Labie. No et hémoglobine-une longue histoire et quelques controverses. *médecine/sciences*, 25(2) :132-135, 2009.
- [46] Li Jia, Celia Bonaventura, Joseph Bonaventura, and Jonathan S Stamler. S-nitrosohaemoglobin : a dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature*, 380(6571) :221-226, 1996.
- [47] Andrew J Gow and Jonathan S Stamler. Reactions between nitric oxide and haemoglobin under physiological conditions. *Nature*, 391(6663) :169-173, 1998.
- [48] Diana L Diesen, Douglas T Hess, and Jonathan S Stamler. Hypoxic vasodilation by red blood cells : evidence for an s-nitrosothiol-based signal. *Circulation research*, 103(5) :545-553, 2008.
- [49] Giuseppe Magro. Sars-cov-2 and covid-19 : Is interleukin-6 (il-6) the 'culprit lesion' of ards onset? what is there besides tocilizumab? sgp13Cfc. *Cytokine : X*, 2(2) :100029, 2020.
- [50] Daryoush Hamidi Alamdari, Ahmad Bagheri Moghaddam, Shahram Amini, Mohammad Reza Keramati, Azam Moradi Zarmehri, Aida Hamidi Alamdari, Mohammadamin Damsaz, Hamed Banpour, Amir Yarahmadi, and George Koliakos. Application of methylene blue-vitamin c-n-acetyl cysteine for treatment of critically ill covid-19 patients, report of a phase-i clinical trial. *European journal of pharmacology*, 885 :173494, 2020.
- [51] Jesús Beltrán-García, Rebeca Osca-Verdegel, Federico V Pallardó, José Ferreres, María Rodríguez, Sandra Mulet, Fabian Sanchis-Gomar, Nieves Carbonell, and José Luis
-

- García-Giménez. Oxidative stress and inflammation in covid-19-associated sepsis : the potential role of anti-oxidant therapy in avoiding disease progression. *Antioxidants*, 9(10) :936, 2020.
- [52] Anthony J Valente, Tadashi Yoshida, Subramanyam N Murthy, Siva SVP Sakamuri, Masato Katsuyama, Robert A Clark, Patrice Delafontaine, and Bysani Chandrasekar. Angiotensin ii enhances at1-nox1 binding and stimulates arterial smooth muscle cell migration and proliferation through at1, nox1, and interleukin-18. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 303(3) :H232–H296, 2012.
- [53] Daniela Zablocki and Junichi Sadoshima. Angiotensin ii and oxidative stress in the failing heart. *Antioxidants & redox signaling*, 19(10) :1095–1109, 2013.
- [54] Sergey I Dikalov and Rafal R Nazarewicz. Angiotensin ii-induced production of mitochondrial reactive oxygen species : potential mechanisms and relevance for cardiovascular disease. *Antioxidants & redox signaling*, 19(10) :1085–1094, 2013.
- [55] Alain Favier. Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108(10) :863–832, 2003.
- [56] Mireille Laforge, Carole Elbim, Corinne Frère, Miryana Héinadi, Charbel Massaad, Philippe Nuss, Jean-Jacques Benoliel, and Chrystel Becker. Author correction : Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in covid-19. *Nature reviews. Immunology*, page 1, 2020.
- [57] Jeanine Haleng, Joël Pincemail, Jean-Olivier Defraigne, Corinne Charlier, and Jean-Paul Chapelle. Le stress oxydant. *Revue médicale de Liège*, 62(10) :628–38, 2007.
- [58] Fernanda Caetano Camini, Camila Carla da Silva Caetano, Letícia Trindade Almeida, and Cintia Lopes de Brito Magalhaes. Implications of oxidative stress on viral pathogenesis. *Archives of Virology*, 162(4) :907–917, 2017.
- [59] Zhenzhen Zhang, Liang Rong, and Yi-Ping Li. Flaviviridae viruses and oxidative stress : implications for viral pathogenesis. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 2019.
- [60] Joël Pincemail, Etienne Cavalier, Corinne Charlier, Jean-Paul Cheramy-Bien, Eric Breviers, Audrey Courtois, Marjorie Fadeur, Smail Meziane, Caroline Le Goff, Benoît Misset, et al. Oxidative stress status in covid-19 patients hospitalized in intensive care unit for severe pneumonia. a pilot study. *Antioxidants*, 10(2) :257, 2021.
- [61] Wulf Dröge and Raoul Breitkreutz. Glutathione and immune function. *Proceedings of the Nutrition Society*, 59(4) :595–600, 2000.
- [62] Devin Morris, Melissa Khurasany, Thien Nguyen, John Kim, Frederick Guilford, Rucha Mehta, Dennis Gray, Beatrice Saviola, and Vishwanath Venketaraman. Glutathione and
-

- 
- infection. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1830(5) :3329–3349, 2013.
- [63] Alexey Polonikov. Endogenous deficiency of glutathione as the most likely cause of serious manifestations and death in covid-19 patients. *ACS infectious diseases*, 6(7) :1558–1562, 2020.
- [64] Mauro Serafini and Daniele Del Rio. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease : is the total antioxidant capacity the right tool? *Redox report*, 9(3) :145–152, 2004.
- [65] Grzegorz Bartosz. Non-enzymatic antioxidant capacity assays : limitations of use in biomedicine. *Free radical research*, 44(7) :711–720, 2010.
- [66] Pincemail Joël, Kaci Mouna-Messaouda, Cheramy-Bien Jean-Paul, Defraigne Jean-Olivier, and Meziane Smail. Electrochemical methodology for evaluating skin oxidative stress status (soss). *Diseases*, 7(2) :40, 2019.
- [67] Randy Read. Flawed methods in “covid-19 : attacks the 1-beta chain of hemoglobin and captures the porphyrin to inhibit human heme metabolism”. 2020.
- [68] Carlos André Prauchner. Oxidative stress in sepsis : pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy. *Burns*, 43(3) :471–485, 2017.
- [69] Rubens Cecchini and Alessandra Lourenço Cecchini. Sars-cov-2 infection pathogenesis is related to oxidative stress as a response to aggression. *Medical hypotheses*, 143 :110102, 2020.
- [70] Huiping Shuai, Hin Chu, Yuxin Hou, Dong Yang, Yixin Wang, Bingjie Hu, Xiner Huang, Xi Zhang, Yue Chai, Jian-Piao Cai, et al. Differential immune activation profile of sars-cov-2 and sars-cov infection in human lung and intestinal cells : implications for treatment with ifn- $\beta$  and ifn inducer. *Journal of Infection*, 81(4) :e1–e10, 2020.
- [71] Katharina Effenberger-Neidnicht and Matthias Hartmann. Mechanisms of hemolysis during sepsis. *Inflammation*, 41(5) :1569–1581, 2018.
- [72] Andréa Name Colado Simão, Andréia Akemi Suzukawa, Maria Fernanda Casado, Rosinei Danieli Oliveira, Flávia Alessandra Guarnier, and Rubens Cecchini. Genistein abrogates pre-hemolytic and oxidative stress damage induced by 2, 2-azobis (amidino-propane). *Life sciences*, 78(11) :1202–1210, 2006.
- [73] Yanaihara Pinchemel Amorim de Oliveira, Lain Carlos Pontes-de Carvalho, Ricardo David Couto, and Alberto Augusto Noronha-Dutra. Oxidative stress in sepsis. possible production of free radicals through an erythrocyte-mediated positive feedback mechanism. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 21(1) :19–26, 2017.
-

- 
- [74] Luiz RC Vasconcellos, Fabianno F Dutra, Mariana S Siqueira, Heitor A Paula-Neto, Jennifer Dahan, Ellen Kiarely, Leticia AM Carneiro, Marcelo T Bozza, and Leonardo H Travassos. Protein aggregation as a cellular response to oxidative stress induced by heme and iron. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(47) :E7474–E7482, 2016.
- [75] Yongzhong Wei, James R Sowers, Ravi Nistala, Heping Gong, Grace M-E Uptergrove, Suzanne E Clark, E Matthew Morris, Nicholas Szary, Camila Maurique, and Craig S Stump. Angiotensin ii-induced nadph oxidase activation impairs insulin signaling in skeletal muscle cells. *Journal of Biological Chemistry*, 281(46) :35137–35146, 2006.
- [76] J Rincón, D Correia, JL Arcaya, Esteban Finol, A Fernández, M Pérez, K Yaguas, E Talavera, M Chávez, R Summer, et al. Role of angiotensin ii type 1 receptor on renal nad (p) h oxidase, oxidative stress and inflammation in nitric oxide inhibition induced-hypertension. *Life sciences*, 124 :81–90, 2015.
- [77] Gavin Y Oudit, Zamaneh Kassiri, Mikin P Patel, Mark Chappell, Jagdish Butany, Peter H Backx, Robert G Tsushima, James W Scholey, Rama Khokha, and Josef M Penninger. Angiotensin ii-mediated oxidative stress and inflammation mediate the age-dependent cardiomyopathy in ace2 null mice. *Cardiovascular research*, 75(1) :29–39, 2007.
- [78] Amr H Sawalha, Ming Zhao, Patrick Coit, and Qianjin Lu. Epigenetic dysregulation of ace2 and interferon-regulated genes might suggest increased covid-19 susceptibility and severity in lupus patients. *Clinical Immunology*, 215 :108410, 2020.
- [79] Sven Wassmann, Michaela Stumpf, Kerstin Strehlow, Andreas Schmid, Bernhard Schieffer, Michael Bohm, and Georg Nickenig. Interleukin-6 induces oxidative stress and endothelial dysfunction by overexpression of the angiotensin ii type 1 receptor. *Circulation research*, 94(4) :534–541, 2004.
- [80] BV Chernyak, EN Popova, AS Prikhodko, OA Grebenchikov, LA Zinovkina, and RA Zinovkin. Covid-19 and oxidative stress. *Biochemistry (Moscow)*, 85(12) :1543–1553, 2020.
- [81] Jianhong Fu, Jindan Kong, Wei Wang, Meiyong Wu, Lin Yao, Zhaoyue Wang, Jun Jin, Depei Wu, and Xin Yu. The clinical implication of dynamic neutrophil to lymphocyte ratio and d-dimer in covid-19 : A retrospective study in suzhou china. *Thrombosis research*, 192 :3–8, 2020.
- [82] Betsy J Barnes, Jose M Adrover, Amelia Baxter-Stoltzfus, Alain Borczuk, Jonathan Cools-Lartigue, James M Crawford, Juliane Daßler-Plenker, Philippe Guerci, Caroline Huynh, Jason S Knight, et al. Targeting potential drivers of covid-19 : Neutrophil extracellular traps. *Journal of Experimental Medicine*, 217(6), 2020.
-

- 
- [83] Zhu Zhongming, Lu Linong, Zhang Wangqiang, Liu Wei, et al. How a covid-19 infection changes blood cells in the long run. 2021.
- [84] Mireille Laforge, Carole Elbim, Corinne Frère, Miryana Hémadi, Charbel Massaad, Philippe Nuss, Jean-Jacques Benoliel, and Chrystel Becker. Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in covid-19. *Nature Reviews Immunology*, 20(9) :515–516, 2020.
- [85] Leonard Naymagon, Shana Berwick, Alaina Kessler, Guido Lancman, Umesh Gidwani, and Kevin Troy. The emergence of methemoglobinemia amidst the covid-19 pandemic. *American journal of hematology*, 2020.
- [86] Bart G Pijls, Shahab Jolani, Anique Atherley, Raissa T Derckx, Janna IR Dijkstra, Gregor HL Franssen, Stevie Hendriks, Anke Richters, Annemarie Venemans-Jellema, Saurabh Zalpuri, et al. Demographic risk factors for covid-19 infection, severity, icu admission and death : a meta-analysis of 59 studies. *BMJ open*, 11(1) :e044640, 2021.
- [87] P Balasubramaniam, A Malathi, et al. Comparative study of hemoglobin estimated by drabkin's and sahli's methods. *Journal of postgraduate medicine*, 38(1) :8, 1992.
- [88] Cannon Dj. Methemoglobin. *Therapeutic Drug Monitoring (AACC)*, 13 :3–4, 1996.
- [89] Vendevre J.L Nassy G. Jeuge s., Crlier M. L'oxydation des produits carnés : Méthodes de mesure et moyens de maîtrise. *IFIP Institut du porc* 2012.
- [90] J. (n.d.). D. Mesure de la capacité antioxydante.
- [91] Bart G Pijls, Shahab Jolani, Anique Atherley, Raissa T Derckx, Janna IR Dijkstra, Gregor HL Franssen, Stevie Hendriks, Anke Richters, Annemarie Venemans-Jellema, Saurabh Zalpuri, et al. Demographic risk factors for covid-19 infection, severity, icu admission and death : a meta-analysis of 59 studies. *BMJ open*, 11(1) :e044640, 2021.
- [92] Timotius Ivan Hariyanto and Andree Kurniawan. Anemia is associated with severe coronavirus disease 2019 (covid-19) infection. *Transfusion and apheresis science*, 59(6), 2020.
- [93] Sanjana Fatema Chowdhury and Saeed Anwar. Management of hemoglobin disorders during the covid-19 pandemic. *Frontiers in Medicine*, 7 :306, 2020.
- [94] Timotius Ivan Hariyanto and Andree Kurniawan. Anemia is associated with severe coronavirus disease 2019 (covid-19) infection. *Transfusion and apheresis science*, 59(6), 2020.
- [95] Philip Murphy, Siobhan Glavey, and John Quinn. Anemia and red blood cell abnormalities in covid-19. *Leukemia & Lymphoma*, 62(6) :1539–1539, 2021.
-

- [96] MJ Grange, F Brivet, P Boumier, and G Tchernia. Diagnostic and prognostic values of vacuolated polymorphonuclear neutrophils (author's transi). *La Nouvelle presse medicale*, 9(35) :2553-2554, 1980.
- [97] Felix Scholkmann, Tanja Restin, Marco Ferrari, and Valentina Quaresima. The role of methemoglobin and carboxyhemoglobin in covid-19 : A review. *Journal of clinical medicine*, 10(1) :50, 2021.
- [98] Evan M. Braunstein. Traitement de l'anémie. *LE MANUEL MSD*, Septembre.2021.
-

## ملخص:

منذ أن أعلنت منظمة الصحة العالمية أن كوفيد 19 جائحة، تم بذل جهد كبير لفهم هذا المرض الخطير. تم تخصيص آلاف الدراسات لفهم وبائياتها وخصائصها الجزيئية وآلياتها والمسار السريري لهذه العدوى الفيروسية. ومع ذلك، فقد تم نشر القليل عن تأثيره على الدم وبالضبط تأثيره على خلايا الدم الحمراء. الإصابة بعدوى كوفيد 19، خاصة في الحالات التي تهدد الحياة، تعتمد بشكل كبير على قوة الجهاز المناعي للمضيف. وهذا الأخير يعتمد جزئياً على التوازن بين الإجهاد التأكسدي والأنظمة المضادة للأكسدة في جسم الإنسان. من جهة أخرى، فقد تم إثبات الدور الرئيسي للإجهاد التأكسدي في مرض كوفيد 19. يعد الإجهاد التأكسدي ضاراً جداً للجزيئات الكبيرة الأساسية في خلايانا، وخاصة خلايا الدم الحمراء التي يمكن أن تصبح مختلفة وظيفياً. من أجل ذلك، قنا بإجراء هذه الدراسة والتي تهدف إلى تحديد الاضطرابات الدموية والتشوهات المورفولوجية لخلايا الدم، على وجه الخصوص خلايا الدم الحمراء، وذلك أثناء الإصابة بـ SARS-CoV-2، ومشاركة الإجهاد المؤكسد في هذه الاضطرابات. لهذا، كان علينا إثبات هذا الإجهاد التأكسدي، في المرضى الذين تم التأكد من إصابتهم بـ SARS-CoV-2 عن طريق قياس أحد مؤشرات، ولا سيما الميثيموغلوبين و malonaldehyde (MDA) بعد التفاعل مع الحمض thiobarbiturate (اختبار TBARS) بالإضافة إلى تقييم حالة مضادات الأكسدة الكلية عن طريق اختبار ABTS. نريد أيضاً أن نُحرض تجريبياً اضطرابات الهيموغلوبين و نفس التشوهات المورفولوجية التي لوحظت في المرضى عند الدخول إلى المشفى عن طريق خلط بلازما مرضى كوفيد 19 مع كريات الدم الحمراء لأشخاص أصحاء لإثبات تأثير هذا الإجهاد التأكسدي. أخيراً، نريد ربط هذه التشوهات المورفولوجية ومستوى الميثيموغلوبين مع شدة المرض وتطوره. من خلال البحث الذي تم إجراؤه خلال هذه الدراسة، تمكنا من استنتاج أن مرض كوفيد 19 يُسبب سلسلة من التغيرات في مستوى الدم، تتمثل بشكل رئيسي في اختلال توازن كريات الدم الحمراء وكريات الدم البيضاء بالإضافة إلى تغيير مورفولوجي كبير مرتبط بالإجهاد التأكسدي.

**الكلمات المفتاحية:** كوفيد 19، الإجهاد التأكسدي، خلايا الدم الحمراء، التشوهات المورفولوجية، الميثيموغلوبين.

## **Abstract:**

Since the WHO declared COVID-19 as a pandemic, a great effort has been made to understand this serious illness. Thousands of studies were devoted to understand its epidemiology, its molecular characteristics, its mechanisms and the clinical course of this viral infection. However, little has been published on its pathogenesis towards blood, particularly, its impact on red blood cells.

The COVID-19 infection, especially in life-threatening conditions, is highly dependent on the strength of the host's immune system. This latter depends in part on the balance between oxidative stress and the antioxidant systems of the human body. Besides that, a key role of oxidative stress has been demonstrated in the pathogenesis of COVID-19. Oxidative stress is very damaging to essential macromolecules in our cells, and it is especially critical for red blood cells, which can become dysfunctional.

Therefore, we carried out this study which aims to identify hemobiological disturbances and morphological abnormalities of blood cells, in particular red blood cells, during the infection by SARS-CoV-2 and the involvement of oxidative stress in these disturbances. To do this, we had to demonstrate the presence of this oxidative stress in patients confirmed to be infected with SARS-CoV-2, by measuring two of its markers, in particular, methemoglobin and malonaldehyde (MDA) after reaction with the thiobarbituric acid (TBARS test) and assessment of total antioxidant status by ABTS test. We also wanted to experimentally induce the hemoglobin disturbances and morphological abnormalities observed in patients on their admission by mixing the plasma of COVID-19 patients with the pellet of red blood cells from healthy people to demonstrate the exacerbation of this oxidative stress. Finally, we wanted to correlate these morphological abnormalities and the methemoglobin level with the severity and the progress of the disease. Through the research carried out during this study, we were able to conclude that Covid 19 disease causes a series of blood changes, mainly represented by an imbalance of erythrocyte and leukocyte parameters as well as a significant morphological alteration associated with oxidative stress. The severity of these changes is directly proportional to the severity of the infection. Methemoglobin also appears to be elevated with dynamics following disease progression.

**Key words:** COVID-19, Oxidative stress, Red blood cell, Morphological abnormalities, Methemoglobin.

## **Résumé:**

Depuis que l'OMS a déclaré le COVID-19 comme une pandémie, un grand effort a été fait pour comprendre cette maladie grave. Des milliers d'études sont consacrées à la compréhension de son épidémiologie, de ses caractéristiques moléculaires, de ses mécanismes et de l'évolution clinique de cette infection virale. Cependant, peu de choses ont été publiées sur sa pathogénèse envers le sang et en particulier, son impact sur les globules rouges.

L'infection au COVID-19, en particulier dans les états mettant la vie en danger, dépend fortement de la force du système immunitaire de l'hôte. Ce dernier dépend en partie de l'équilibre entre le stress oxydatif et les systèmes antioxydants de l'organisme humain. Par ailleurs, un rôle clé du stress oxydatif a été mis en évidence dans la pathogénèse du COVID-19. Le stress oxydatif est très dommageable pour les macromolécules essentielles de nos cellules, plus particulièrement critiques pour les globules rouges, qui peuvent devenir dysfonctionnels.

Par conséquent, nous avons réalisé cette étude qui a pour but d'identifier les perturbations hémobiologiques et les anomalies morphologiques des cellules sanguines, en particulier les GR, au cours de l'infection par le SARS-CoV-2 et l'implication du stress oxydatif. Pour cela, nous avons dû à mettre en évidence ce stress oxydatif, chez des patients qui ont été confirmés comme étant infectés par le SRAS-CoV-2, en dosant deux de ces marqueurs notamment la méthémoglobine et le malonaldéhyde (MDA) après réaction avec l'acide thiobarbiturique (test à TBARS) et en évaluant le statut antioxydant total par le test à ABTS. Nous voulons induire expérimentalement les perturbations de l'hémoglobine et les anomalies morphologiques observées au paravent des cellules sanguines (GR et GB) en mélangeant le plasma des malades COVID-19 avec le culot globulaire des sujets sains pour mettre en évidence l'exacerbation du stress oxydatif. Enfin, nous voulons faire la corrélation de ces anomalies morphologiques et le taux de méthémoglobine avec la sévérité et l'évolution de la maladie.

A travers les recherches menées lors de cette étude, nous avons pu conclure que la maladie de Covid-19 provoque une série de changements au niveau sanguin, principalement représentés par un déséquilibre des paramètres érythrocytaires et leucocytaires ainsi qu'une altération morphologiques importantes associé au stress oxydatif. La gravité de ces changements est directement proportionnelle à la gravité de l'infection. La méthémoglobine semble aussi être élevés avec une dynamique suivant la progression de la maladie.

**Mots clés:** COVID-19, Stress oxydant, Globule rouge, Anomalies morphologiques, Méthémoglobine.