



UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2021

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN MÉDECINE

**Rôle de l'immunité innée et des polynucléaires neutrophiles
dans la COVID-19**

Présentée et soutenue publiquement le 5 Octobre 2021 à 14h
au Pôle Formation
par **Axel THEOBALD**

JURY

Président :

Madame le Professeur Myriam LABALETTE

Assesseurs :

Madame le Docteur Fanny VUOTTO

Monsieur le Docteur Enagnon Kazali ALIDJINOU

Directeur de thèse :

Madame le Docteur Julie DEMARET

Liste des figures

Figure 1. Structure schématisée du SARS-CoV-2.....	14
Figure 2. Structure schématisée de l'ARN génomique du SARS-CoV-2.....	15
Figure 3. Cinétique des différents analytes spécifiques à la COVID-19 rapportée à l'évolution de la maladie depuis l'exposition au virus jusqu'à l'apparition des symptômes.....	21
Figure 4. Illustration représentant un test immunochromatographique (dépistage rapide), exemple d'un test détectant les IgG et IgM.....	23
Figure 5. Illustration des composants de l'immunité locale dans la cavité nasale, la cavité buccale et les glandes salivaires.....	23
Figure 6. Image de TDM thoracique d'un patient atteint par la COVID-19.....	26
Figure 7. Structure schématisée du MERS-CoV.....	38
Figure 8. Transmission inter-espèce et interhumaine du MERS-CoV.....	41
Figure 9. Transmission inter-espèce du MERS-CoV par les déjections, le lait et les gouttelettes expulsées par l'animal.....	41
Figure 10. Graphique représentant les structures génomiques des SARS-CoV-2, SARS-CoV-1 et MERS-CoV.....	45
Figure 11. Représentation de la réponse immunitaire aux coronavirus sur le modèle du MERS-CoV : invasion et lutte antivirale.....	58
Figure 12. Résumé du recrutement classique et des fonctions des PNN au sein d'un tissu lésé.....	61
Figure 13. Les neutrophiles et la nétose conduisant à l'inflammation nécrotique dans la COVID-19.....	66

Liste des tableaux

Tableau 1. Synthèse des vaccins disponibles en France et en Europe après obtention de l'autorisation de mise sur le marché.....	32
Tableau 2. Preuves de l'inflammation nécrotique médiée par les neutrophiles dans les infections à coronavirus.....	68

Liste des abréviations

ACE-2: angiotensin converting enzyme 2

COVID-19: Coronavirus Disease 2019

DAMP: danger-associated molecular pattern

DPP4: dipeptidyl peptidase 4

IFN: interféron

Ig: immunoglobulines

MERS-CoV: Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus

NET: neutrophil extracellular traps

NF- κ B: nuclear factor kappa B

ORF: open reading frame

PAMP: pathogen-associated molecular pattern

PNN: polynucléaires neutrophiles

PRR: pathogen recognition receptor

SARS-CoV: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus

TLR: Toll-like receptor

Sommaire

Introduction	10
I. La pathologie COVID-19	12
A. Physiopathologie	12
1. Taxonomie	12
2. Epidémiologie	12
3. Structure du virus et zones d'intérêt	13
a) <i>Protéine S</i>	15
b) <i>Gènes N et E2</i>	15
c) <i>ARN génomique</i>	15
4. Modèle animal	16
5. Cible chez l'homme	17
B. Clinique	18
1. Evolution dans la population générale	18
2. Tableau global	19
C. Diagnostic	20
1. Biologie	20
2. Imagerie	24
D. Prise en charge	25
1. Médication	25
2. Vaccination	29
Conclusion	32
II. Les autres coronavirus hautement pathogènes (SARS-CoV-1 et MERS-CoV)	33
A. Physiopathologie	33
1. Taxonomie	33
2. Epidémiologie	33
3. Structure du SARS-CoV-1	34
a) <i>Protéine S</i>	35
b) <i>Protéine N</i>	35
c) <i>Protéine M</i>	35
d) <i>Protéine E</i>	36
e) <i>ORF 3a</i>	36
f) <i>ORF 7a</i>	37
4. Structure du MERS-CoV	37

5.	Modèle animal	39
6.	Cible chez l'homme	41
B.	Clinique	41
1.	Evolution dans la population générale	41
2.	Suivi à 1 an de patients MERS en Corée du Sud	43
3.	Comparaison entre SARS-CoV-1 et MERS-CoV	43
4.	Structure génomique des coronavirus hautement pathogènes.....	44
C.	Diagnostic	45
1.	Biologie	45
2.	Imagerie.....	46
D.	Prise en charge.....	46
1.	Prise en charge actuelle	46
2.	Recherche, thérapies innovantes, vaccin.....	47
	Conclusion.....	48
III.	Réponse immunitaire antivirale.....	49
	Introduction	49
A.	Immunité innée	49
	Introduction	49
1.	Les interférons.....	50
2.	Les lymphocytes NK.....	51
3.	La phagocytose	52
B.	Immunité adaptative.....	53
	Introduction	53
1.	Les anticorps antiviraux.....	54
2.	Le complément.....	56
3.	La réponse T spécifique	57
C.	Les polynucléaires neutrophiles.....	59
1.	Généralités	59
2.	Recrutement et fonctions.....	60
IV.	Elargissement au travail de mémoire : les PNN dans la	
	COVID-19	64
	Conclusion	68
	Bibliographie	69

Introduction

La COVID-19 est une pathologie, qui depuis le début de l'année 2020 a atteint le stade de pandémie et, au moment de la rédaction de cette thèse, qui ne s'est pas encore résorbée. Par conséquent, les informations et les conclusions qui découlent de ce travail bibliographique sont à replacer dans leur contexte.

L'émergence de ce nouveau coronavirus, baptisé SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome – Coronavirus 2), fût l'occasion de reprendre des travaux menés sur deux autres coronavirus responsables d'épidémies jusqu'ici. Les coronavirus pathogènes chez l'homme sont SARS-CoV-1 et MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome – Coronavirus) et sont à l'origine d'un syndrome de détresse respiratoire aigüe.

Fin 2002, en Chine, le SARS-CoV-1 crée la première épidémie à coronavirus (1). Dix ans plus tard, c'est au tour du MERS-CoV d'inquiéter la population, au Moyen-Orient, en Corée du Sud, en Algérie ou en France, pour un total de 27 pays touchés à ce jour. Les épidémies causées par ces deux virus ont été l'occasion pour la recherche mondiale de travailler sur des thérapies et des vaccins efficaces pour les contrer. De même, ce fût l'occasion d'étudier les mécanismes immunologiques développés par ces pathogènes qui ont servi de base aux travaux réalisés sur le SARS-CoV-2.

Dans ce travail de thèse bibliographique, nous commencerons par présenter le virus du SARS-CoV-2 responsable de la pathologie COVID-19. Le curseur restera sur le patient adulte par cohérence avec le mémoire qui comporte une cohorte de patients adultes. Dans un second temps, une présentation sur les deux autres coronavirus, SARS-CoV-1 et MERS-CoV, nous permettra d'établir une comparaison avec ce

nouveau coronavirus qui est apparu fin 2019. La partie MERS-CoV sera davantage développée. Ces deux présentations seront l'occasion de poursuivre notre réflexion sur la réponse immunitaire antivirale. De la première ligne de défense où nous verrons les phagosomes aidés par les opsonines pour phagocyter les agents pathogènes, nous poursuivrons par une description de la réponse T spécifique qui parachève la mémoire immunologique du patient. Enfin, la conclusion est une ouverture sur le travail de mémoire en cours qui étudie la réponse des polynucléaires neutrophiles chez 32 patients du CHU de Lille avec une forme sévère de COVID-19. Cela permettra de mettre en évidence les mécanismes issus de l'activation des neutrophiles dans un cadre infectieux appliqué à la pathologie COVID-19.

I. La pathologie COVID-19

A. Physiopathologie

1. Taxonomie

La maladie à coronavirus 2019 ou COVID-19 (dénomination de l'Organisation mondiale de la santé, OMS) est engendrée par un virus à ARN de la famille des *Coronaviridae*, sous-type *Orthocoronavirinae*, genre *Betacoronavirus*, sous-genre *Sarbecovirus* (2). Il est appelé SARS-CoV-2, coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère, par le Comité international de taxonomie des virus (ICTV), un consensus de virologues responsables de la classification des virus. Pour faciliter la communication avec le grand public, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a désigné ce virus sous le nom de « virus de la COVID-19 » ou « virus responsable de maladie COVID-19 » (3). Ces dénominations ne se substituent en aucun cas au nom officiel du virus défini par l'ICTV.

2. Epidémiologie

La pathologie COVID-19 a été classée en tant que sixième urgence mondiale de santé publique après la grippe H1N1 (2009), la poliomyélite (2014), le virus Ebola en Afrique de l'Ouest (2014), le virus Zika (2016) et le virus Ebola en République Démocratique du Congo (2019) et a atteint le stade de pandémie en 2020. Elle s'est étendue rapidement à partir de Wuhan en Chine en décembre 2019, n'épargnant que de rares pays souvent petit et/ou insulaire. A cause de l'absence de vaccin et de thérapies dédiés à ce virus, le nombre de morts biologiquement confirmés n'a cessé

d'augmenter avec une prédominance chez les plus de 65 ans. On peut supposer qu'il faut rapprocher ce constat à l'immunosénescence, c'est-à-dire la diminution physiologique de l'immunité cellulaire causée par le vieillissement naturel du patient (4).

3. Structure du virus et zones d'intérêt

Le SARS-CoV-2 et six autres coronavirus sont infectants pour l'homme (SARS-CoV-1, MERS-CoV, HKU1, OC43, NL63 et 229E). Phylogénétiquement, celui-ci est proche des SARS-CoV-1 et MERS-CoV. Comme eux, il colonise le parenchyme pulmonaire et cause une pathologie pulmonaire pouvant être létale (5).

Il est composé d'une enveloppe lipidique dans laquelle on retrouve enchevêtrées la glycoprotéine S (spike), la protéine d'enveloppe (E) et l'hémagglutinine-estérase (HE). A l'intérieur de celle-ci, il existe une matrice formée de la protéine M et d'une capsidie hélicoïdale formée de protéine N. L'intérieur de la capsidie renferme un ARN simple brin à polarité positive (Figure 1) (5).

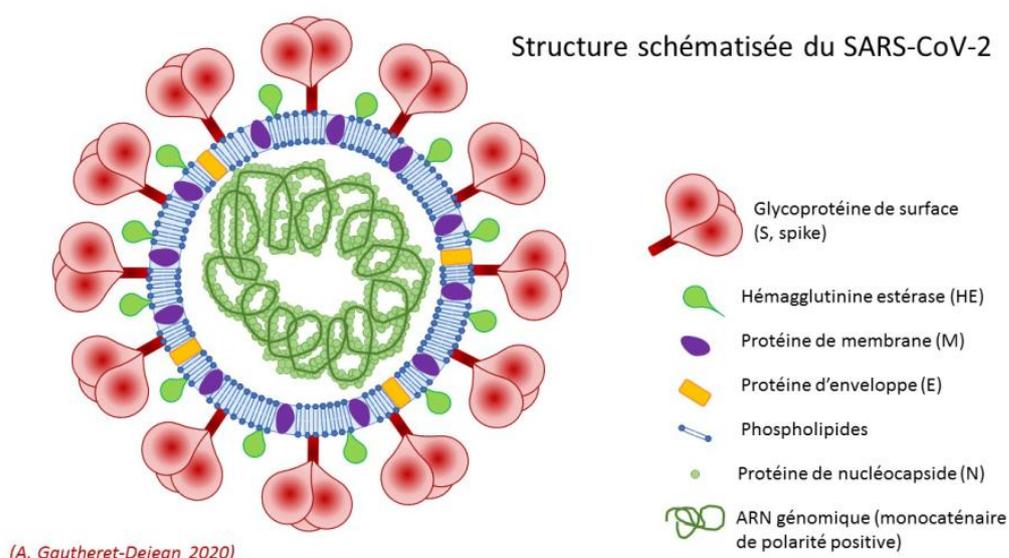


Figure 1 : Structure schématisée du SARS-CoV-2 (5)

Le génome possède 10 cadres de lecture ouverts (ORF) et code environ 30 protéines. Dans sa partie 5', on retrouve une séquence non codante puis les premiers ORF (ORF1a/b) qui codent une polyprotéine non structurale. L'ORF1 est composée de 16 protéines non structurales dont l'ARN polymérase ARN dépendant, les gènes codant les protéines de structure S (sous-unité S1 et S2), E, M puis N. L'ORF1a code les protéines de 1 à 11 et l'ORF1b celles de 12 à 16 (Figure 2). Six gènes codant des protéines accessoires sont présents entre les gènes des protéines de structure. Pour des raisons de facilité, le génome est en général représenté sous la forme de son équivalent ADN (5).

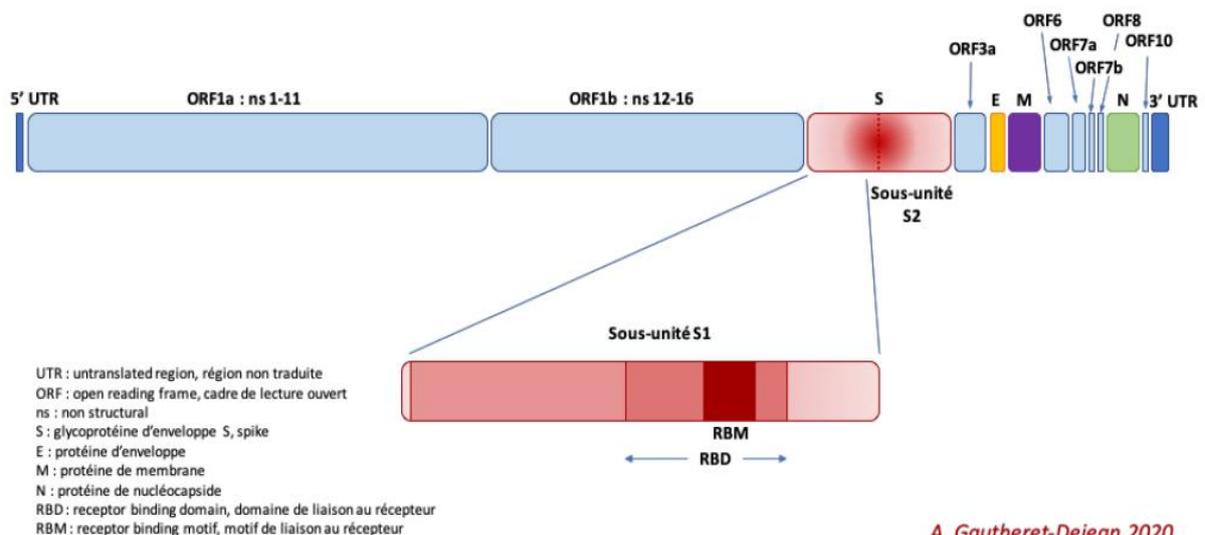


Figure 2 : Structure schématisée de l'ARN génomique du SARS-CoV-2 (5)

a) Protéine S

La protéine S de surface comporte deux sous-unités (S1 et S2). La sous-unité S1 contient le domaine de liaison au récepteur (RBD) dans lequel on retrouve le motif de liaison au récepteur (RBM). La sous-unité S2 contient le peptide de fusion. La partie S1 permet ainsi l'attachement à la cible tandis que la partie S2 participe à la fusion des membranes virale et cellulaire humaine. Elle s'attache au domaine peptidase du récepteur cellulaire humain, angiotensin-converting enzyme 2 (ACE-2), par l'intermédiaire du RBD dont la surface est légèrement concave et permet d'accueillir la portion N-terminal de la peptidase (4).

b) Gènes N et E2

Le dernier tiers distal du génome, proche du 3'-terminal, encode quatre protéines structurales importantes : la nucléocapside (N), la surface (S), l'enveloppe (E) et la membrane (M). La protéine de nucléocapside maintient le génome dans le virus et les trois autres créent l'enveloppe virale (4).

c) ARN génomique

De tous les virus à ARN, les coronavirus ont les plus grands génomes (29.9 kb) avec au moins 6 extra cadres de lecture ouverts. Le premier d'entre eux, ORF1a/b compte pour les deux tiers de l'ensemble du génome (4). Il constitue d'ailleurs une des cibles utilisées dans la recherche de SARS-CoV-2 par RT-PCR.

4. Modèle animal

Après avoir été incriminé un temps, différentes études ont démontré que la similarité des séquences nucléotidiques entre les coronavirus de pangolin et le SARS-CoV-2 est moindre que celle entre le SARS-CoV-2 et le BatCoV RaGT13, coronavirus de la chauve-souris, avec plus de 96% d'homologie. Selon les publications de Rabi et al. (6) et Andersen et al. (7), les mutations du RBD du SARS-CoV-2 relevées par comparaison avec le virus dont il est le plus semblable (RaTG13) auraient eu pour effet de renforcer l'affinité du RBD pour ACE-2, particulièrement au niveau des cellules pulmonaires humaines (4).

Cela indiquerait que l'origine du SARS-CoV-2 est probablement retrouvée chez la chauve-souris rendant l'implication du pangolin dans la pandémie douteuse. De plus, l'étude de Chaw *et al.* a souligné l'existence d'un transfert de gènes du RBD datant d'au moins 40 ans entre les coronavirus de pangolin et humain. L'existence d'un hôte intermédiaire reste hypothétique. Le scénario proposé par Patiño-Galindo *et al.* suppose l'incorporation du SARS-like RBD (commun avec le SARS-CoV-1) à la souche ancestrale par recombinaison chez la chauve-souris, associée à de multiples mutations spécifiques au niveau du RBD qui se sont faites au cours de l'évolution. Ceci impliquerait que le SARS-CoV-2 soit davantage proche du SARS-CoV-1 humain du point de vue de l'organisation génomique (8,9).

Par ailleurs, une analyse phylogénétique standard et une nouvelle méthode de visualisation des distances génomiques basées sur l'analyse CATPCA ont été exécutées sur le séquençage des premiers génomes de SARS-CoV-2. L'analyse en composantes principales catégorielles (CATPCA) permet la représentation d'un

groupe original de variables en un groupe plus petit par la réduction de la dimensionnalité des données (10).

Le résultat obtenu en date du 2 février 2020 confirme la similarité des SARS-CoV-2 entre eux et la proximité avec un virus de chauve-souris (MG772934.1) avec 91.1% de séquences protéiques en commun par analyse d'espèces croisées (cross-species) et 96.2% de partage de séquence avec le SARS-CoV-2 séquence NC_045512.2 pour le génome de coronavirus de chauve-souris de la base de données GISAID, EPI_ISIL_402131 (11).

5. Cible chez l'homme

Les récepteurs ACE2 sont les principales cibles du SARS-CoV-2. Ils sont présents à la surface de diverses cellules notamment au niveau du parenchyme pulmonaire où le virus cause les formes les plus graves. On les retrouve également à la surface des cellules de l'épithélium du nez, de la trachée, des bronches, des glandes séreuses bronchiques, des alvéoles pulmonaires, mais aussi, des monocytes et macrophages alvéolaires, des cellules endothéliales et des myocytes des vaisseaux sanguins, des entérocytes de l'intestin grêle, des cellules épithéliales des tubules rénaux et des neurones (5).

B. Clinique

1. Evolution dans la population générale

En cette période de pandémie, tout patient est suspect d'infection à SARS-CoV-2 s'il présente une pneumopathie d'origine infectieuse dont l'agent pathogène est inconnu. Les patients manifestent des signes généraux tels que de la fièvre, une toux et une fatigue ainsi que des signes de détresse respiratoire, et une lymphopénie (12–14). Lors des deux premiers jours de l'infection, les patients sont asymptomatiques mais néanmoins contagieux. Après être rentré en contact avec les cellules épithéliales de la cavité nasale, le virus s'y réplique. Malgré la charge virale faible, le SARS-CoV-2 est déjà détectable par détection de l'ARN viral sur un prélèvement nasopharyngé (12–14).

Le virus migre alors vers les voies aériennes inférieures à l'origine d'une réponse innée plus intense au niveau des voies aériennes supérieures. Les manifestations cliniques se font plus présentes. Des marqueurs de l'immunité innée sont alors utiles pour le pronostic infectieux et aident le clinicien à moduler la prise en charge du patient. Selon Mason et al. (12) et Wu et McGoogan (15), plus de 80% des patients ont des symptômes modérés et peuvent rentrer à domicile. Cependant, près de 20% d'entre eux évoluent défavorablement vers une pneumonie aigue. Selon des estimations à la fin du 1^{er} semestre 2020, la mortalité dans la population générale est de 2% avec de fortes disparités lorsque l'on sélectionne les patients âgés et ceux avec des comorbidités. Enfin, il faut garder à l'esprit que certains patients asymptomatiques sont absents des données de santé publique car ceux-ci ne consultent pas de médecins et ne se font pas tester.

L'étape finale dans la progression du virus correspond à une réponse sévère caractérisée par une hypoxie progressant vers la pneumonie aiguë. Le virus a atteint les alvéoles et interfère avec les échanges vasculaires et gazeux en infectant préférentiellement les cellules alvéolaires de type 2. La propagation et la multiplication du virus dans ces cellules, ainsi que la décharge de particules virales amènent les cellules alvéolaires de type 2 à l'apoptose et la mort (12–14).

2. Tableau global

Les symptômes respiratoires sont communs à la plupart des virus respiratoires dont les coronavirus. On retrouve souvent une toux, une dyspnée, une rhinorrhée et la gorge irritée. Les signes gastro-intestinaux sont moins communs, avec des nausées, vomissements, diarrhées, hypoguesie et hyposmie. L'agueusie et l'anosmie sont néanmoins des caractéristiques souvent retrouvées chez les patients présentant la COVID-19. Les autres symptômes généraux et/ou moins fréquents sont la fièvre, la congestion nasale, les myalgies, la fatigue, les maux de tête, la confusion et les frissons. De plus, les images de scanner thoracique ont montré, chez les patients symptomatiques et asymptomatiques, un aspect anormal avec des opacités en verre dépoli, infiltration et épaissement du parenchyme pulmonaire était présent (16,17).

C. Diagnostic

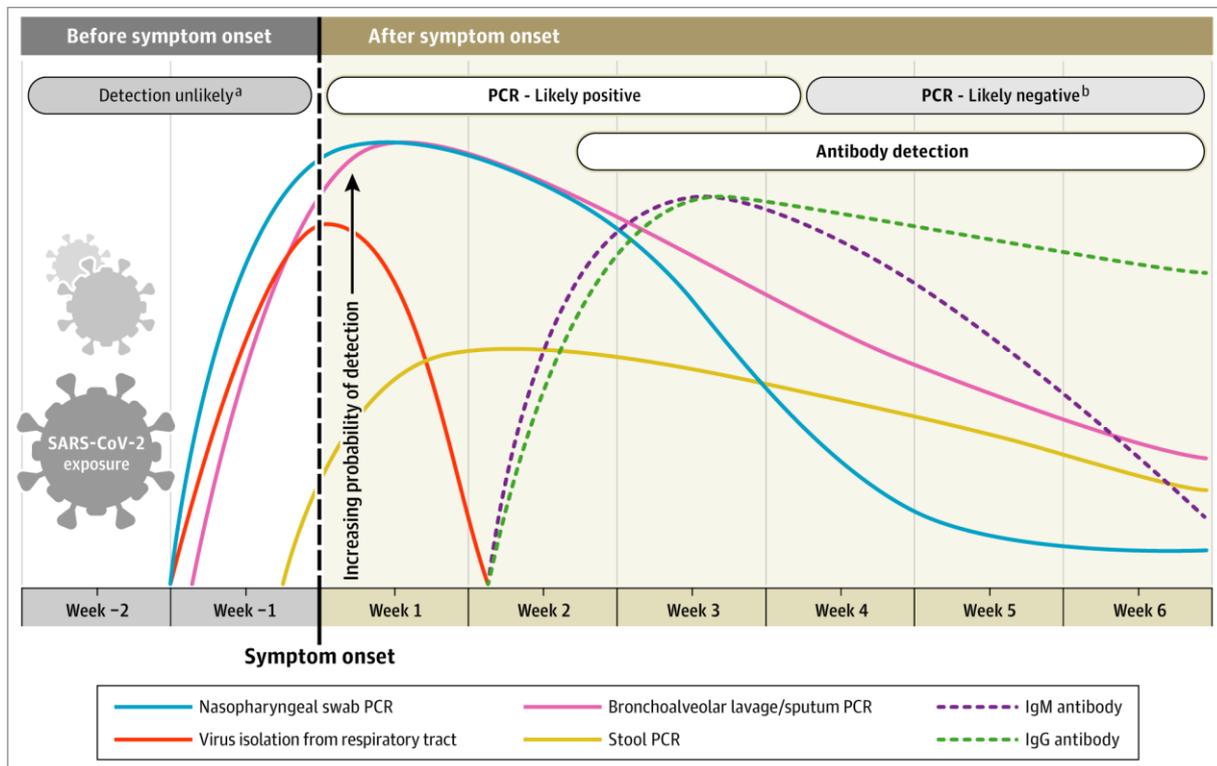


Figure 3 : Cinétique des différents analytes spécifiques à la COVID-19 rapportée à l'évolution de la maladie depuis l'exposition au virus jusqu'à l'apparition des symptômes (18)

1. Biologie

- **Standard** : On observe généralement une leucopénie, une lymphopénie, une thrombopénie et une augmentation de la CRP (16). La neutrophilie est fréquente chez les patients en soins intensifs (19).
- **PCR simple** : Comme illustré dans la Figure 3, le gold standard repose sur la réalisation d'une amplification de l'ARN génomique viral par PCR sur un écouvillon nasopharyngé. Cette méthode consiste à amplifier une quantité de matériel génétique jusqu'à ce que le niveau en soit détectable (single-based

resolution levels), ainsi elle permet une détection précoce de l'infection. Le résultat se présente sous la forme d'une courbe d'amplification dont le nombre de cycles et l'allure doivent répondre à des critères définis par le laboratoire et l'état des sciences actuel pour être considéré comme positif. Cet examen peut se réaliser avec divers échantillons biologiques. Le plus utilisé reste le prélèvement nasopharyngé, mais le LBA, les prélèvements trachéaux et les selles peuvent aussi être utilisés.

- **PCR multiplex (Filmarray®/ Qiastat®) :** Il s'agit du même principe de détection que la PCR simple. La différence réside dans les cibles recherchées qui sont multiples et sont vendues par les fabricants en panel réunissant des virus et des bactéries responsables d'infections respiratoires. La détection de/des agents pathogènes est représentée par des courbes de fusion.
- **Test immunochromatographique :** Une autre approche consiste à retrouver les anticorps produits par le système immunitaire du patient contre la maladie. Bien que la technique soit plus rapide à réaliser, elle s'oppose à un obstacle majeur qui est la vitesse de production des anticorps après le début de l'infection. En effet, un délai de 7 à 10 jours est nécessaire. Le test immunochromatographique de détection sérologique qualitatif de la réponse immunitaire du patient et non un test de diagnostic précoce de l'infection (20). En effet, dans la Figure 3 (18), on peut voir qu'un test trop précoce ne permettra pas la détection des immunoglobulines (Ig) puisque celles-ci n'apparaissent qu'au début de deuxième semaine. Il est capable de détecter des IgM et IgG anti-SARS-CoV-2, témoins d'une infection récente ou plus ancienne, respectivement (Figure 4) (20). D'autres tests disponibles sur le marché détectent les IgA présentes dans les cavités nasales du patient

(Figure 5) (21) ou des Ig totales, bien souvent IgG et IgM, ce qui marque un contact post-infectieux sans informer sur la « date » de l'infection puisque les deux immunoglobulines sont détectées sans distinction (20).

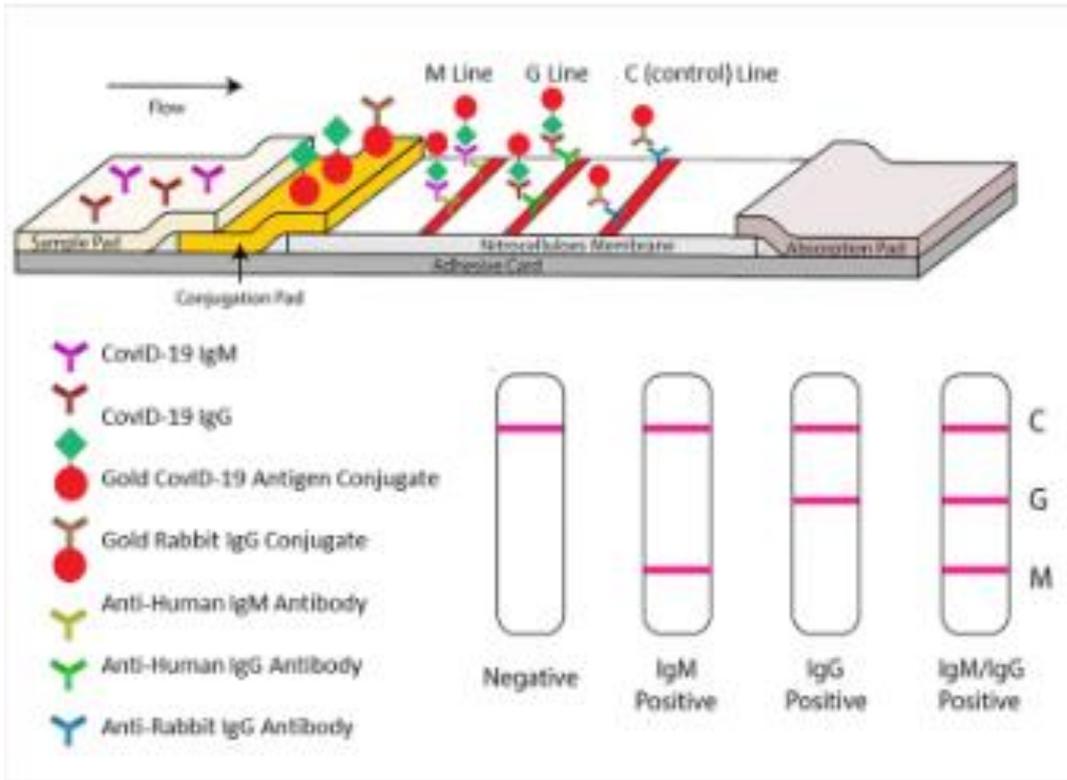


Figure 4 : Illustration représentant un test immunochromatographique (dépistage rapide), exemple d'un test détectant les IgG et IgM (17)

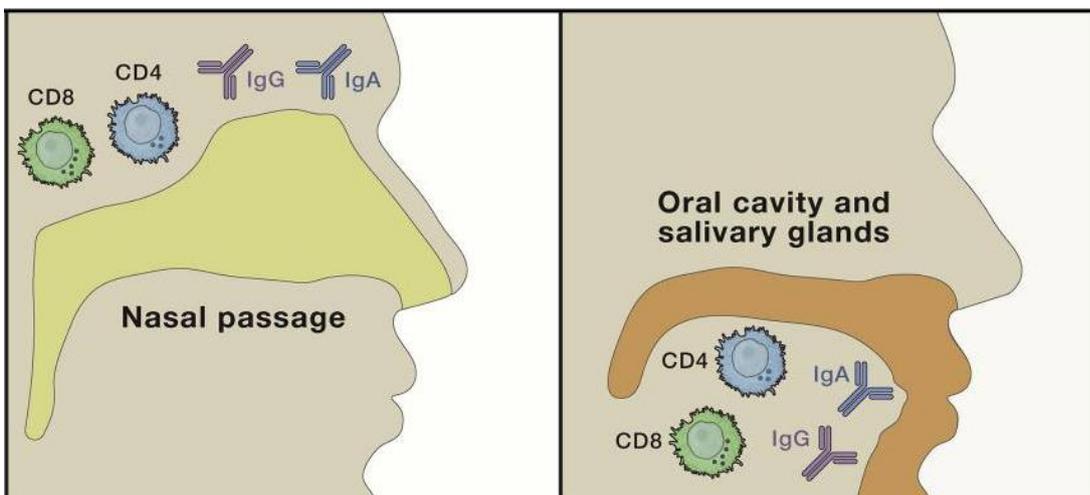


Figure 5 : Illustration des composants de l'immunité locale dans la cavité nasale, la cavité buccale et les glandes salivaires (21)

- **Sérologie** : La sérologie quantitative garde tout son intérêt dans le contrôle de l'immunité des populations (mesures de santé publique et autres protocoles sanitaires). Il existe différents « kits » sur le marché et nous n'en ferons pas une liste exhaustive. Par exemple, le Centre Hospitalier de Valenciennes rend un résultat d'Ig totales avec une technique visant les anticorps anti-protéine S. L'avantage est que cette protéine est abondante et facile d'accès donc facile à détecter. L'inconvénient réside dans son incapacité à différencier les anticorps post-infection des anticorps post-vaccinaux car les vaccins disponibles en Europe à ce jour nous permettent de développer des anticorps anti-S. Au Centre Hospitalier Universitaire de Lille, il est possible de détecter deux types d'anticorps. D'une part, les IgG anti-S (domaine S1) qui sont des anticorps protecteurs post-vaccinaux contre le SARS-CoV-2, d'autre part, les IgM qui détectent les anticorps marqueurs d'une infection aigüe au SARS-CoV-2 mais aussi les Ig totales (IgG et IgM) anti-S (domaine RBD) qui rapportent d'un contact avec le SARS-CoV-2 qu'il soit à travers une infection ou une vaccination.
- **ELISpot COVID** : En parallèle de la recherche sérologique, la mémoire immunitaire spécifique T a pu montrer son intérêt lors de l'épidémie SARS-CoV-1 (22). Forte de son expertise dans les tests ELISpot grâce à la mise en place d'une plateforme automatisée pour les tests IGRAs (*interferon gamma release assays*) dans le cadre du dépistage de la tuberculose latente, l'Institut d'Immunologie du CHU de Lille a mis au point un test spécifique anti-SARS-CoV-2. En stimulant les cellules mononucléées isolées à partir des patients SARS-CoV-2 positifs avec des pools de peptides chevauchants spécifiques des protéines N, M et S du virus, le but était de quantifier la réponse

lymphocytaire T spécifique par un test ELISpot. Une réponse plus importante a d'ailleurs été corrélée avec la sévérité clinique ainsi qu'avec les tests sérologiques (23). Le suivi de l'immunité spécifique anti SARS-CoV-2 après une infection naturelle est aujourd'hui en cours pour évaluer la durabilité de la réponse. De plus, l'intérêt de ce test est mis à profit dans le cadre du suivi vaccinal et notamment chez les patients âgés au sein de l'étude MONITOCOV-Aging (NCT04760704).

2. Imagerie

La radiographie a montré dès les premiers mois de la pandémie son utilité dans le diagnostic des patients avec une forme débutante. Dans les études cliniques menées par Duan et al. (24) et Tu, et al. (16) , les patients se présentent principalement avec une pneumonie bilatérale d'aspect proche de celle engendrée par Influenza, SARS-CoV-1 et MERS-CoV même si un quart des patients présente une pneumonie unilatérale. Étonnamment, des patients asymptomatiques avaient pour certains des images évocatrices au tomodensitomètre (TDM) thoracique. Pour ceux qui sont symptomatiques, il est observé une opacité en verre dépoli et une infiltration bilatérale du parenchyme pulmonaire sur TDM thoracique (24). On retrouve également, en plus des multiples opacités en verre dépoli, des ombres diffuses, des infiltrations du parenchyme pulmonaire ainsi que des épaissements septaux et un motif de pavage chez tous les patients (asymptomatiques et symptomatique) selon plusieurs groupes de recherche (Figure 6) (16,17).

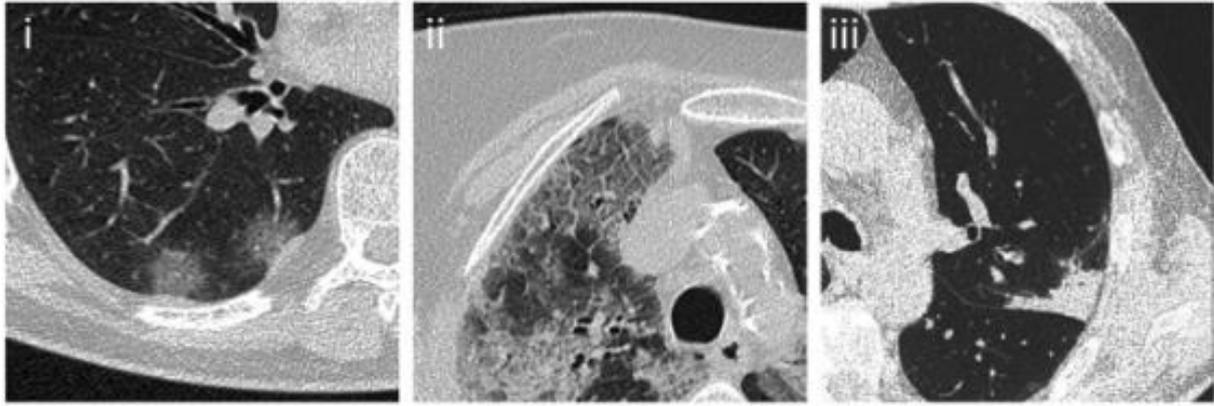


Figure 6 : Image de TDM thoracique d'un patient atteint par la COVID-19 i) opacité en verre dépoli ii) motif de pavage iii) épaissements des septa du parenchyme pulmonaire (17)

D. Prise en charge

La prise en charge des patients COVID-19 est encore une source de débat dans la communauté médicale mais des consensus émergent. Par exemple, les thérapies immunomodulatrices sont utilisées tant sur le versant anti-inflammatoire (corticoïdes) que cellulaire (interféron de type 1) (5). Certaines thérapies sont utilisées à l'échelle mondiale selon des schémas similaires. Nous ne discuterons pas de ces schémas mais les différentes thérapies seront brièvement présentées. Par ailleurs, des innovations sont possibles dans les mois ou les années à venir.

1. Médication

- Immunothérapies à base de plasma de patients convalescents (CP) :
Thérapie largement connue et utilisée, elle a montré son efficacité contre le SARS-CoV-1, MERS-CoV et H1N1 (25–27). Le principe repose sur l'extraction du plasma (avec anticorps neutralisants) d'un patient guéri de l'infection pour

l'administrer ensuite à des patients infectés par le même agent pathogène. Les premiers essais sur l'administration de CP à des patients atteints de forme sévère du COVID-19 ont montré des résultats encourageants et des essais cliniques à grande échelle sont en cours (24,28).

- Thérapie à base d'immunoglobulines humaines : des compagnies essaient de trier les anticorps spécifiques produits par les patients en cours de guérison, pour développer des anticorps fonctionnels à administrer comme traitement du COVID-19 (16). Suivant cette stratégie, l'entreprise de biotechnologie canadienne AbCellera (Vancouver, BC, Canada), en coopération avec Eli Lilly, développe des IgG1 purement humaines basées sur des anticorps monoclonaux comme traitement des infections à coronavirus à partir de plus de 500 anticorps uniques retrouvés dans les sérums de patients COVID-19 convalescents. Dans cette optique, InflaRx (Jena, Allemagne) et Beijing Defrengrei Biotechnology (Beijing, Chine) travaillent sur le même type d'IgG1 humaines en les dirigeant contre la fraction C5a du complément comme thérapie, car des études montrent l'implication majeure de la fraction C5 dans les dommages tissulaires observés chez les patients. Cette thérapie est d'ores-et-déjà en phase d'essai clinique en Chine. Dans un autre registre, Alnylam Pharmaceuticals (Cambridge, MA, USA) développe un petit ARN interférent contre le SARS-CoV-2 administré directement dans les poumons par aérosol. Il est en phase de test *in vitro* et *in vivo*. Une autre approche consiste en la création de nano virucides dont le mécanisme repose sur la fixation chimique de « nanomicelles virucides » (développés pour se fixer chimiquement) à la protéine S du virus (29).

- ACE-2 humain soluble : ACE-2 est le récepteur des cellules humaines qui permet l'entrée du SARS-CoV-2 par interaction avec sa protéine virale S. C'est pourquoi, il a été suggéré d'entraver cette interaction et de créer une thérapie sur ce modèle (30). Pour étayer cette hypothèse, une étude *in vitro* récente montre que l'emploi des ACE-2 humains solubles recombinants dans la pratique clinique (hrsACE2), mais pas des ACE-2 murins solubles, permet d'écourter la réplication du SARS-CoV-2 et entraîne une réduction drastique de la charge virale en cellules Vero de manière dose dépendante (31). Par ailleurs, il a été démontré que les hrsACE2 peuvent inhiber le virus dans les vaisseaux sanguins et les reins artificiels. Cette avancée est prometteuse car les hrsACE2 permettraient d'éviter l'entrée du SARS-CoV-2 dans les cellules cibles et, potentiellement, protéger les patients de manière très précoce de toute atteinte pulmonaire (29).
- Lopinavir (LPV)- Ritonavir (RTV) = Kaletra : traitement approuvé contre le VIH-1 (32)
- Favipiravir (Favilavir ou Avigan) : inhibiteur de l'ARN-polymérase ARN-dépendant, connu pour son efficacité dans les infections virales à Influenza, il a montré son utilité dans des essais cliniques initiaux menés à Wuhan et Shenzhen (33,34).
- Chloroquine/Hydroxychloroquine : traitement de la malaria (OMS), utilisé comme anti-inflammatoire dans le traitement des maladies auto-immunes (35). Son utilisation est contestée après avoir été une lueur d'espoir.

- Remdesivir (GS-5734) : pro-drogue analogue de nucléotide à spectre antiviral large sur de nombreux virus à ARN (36). Il a montré son efficacité dans le traitement de la COVID-19 avec une amélioration clinique observée chez 68% des patients hospitalisés. Ces données positives ont amené l'agence fédérale américaine du médicament (FDA) à délivrer une autorisation d'utilisation en urgence pour ce médicament chez les patients COVID-19 effective à compter de mai 2020 (17).
- SNG001 : médicament expérimental à base d'interféron bêta développé par Synairgen (entreprise de biotechnologie britannique). La voie d'administration intranasale par nébuliseur permettrait une auto-administration par le patient. Il a été développé pour la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO), mais face à la pandémie, il a été utilisé en fast-tracked dans un essai clinique de phase III sur 100 patients au Royaume-Uni. Les résultats sont attendus pour fin 2021 (29).
- Tocilizumab : anticorps monoclonal humain dirigé contre les récepteurs de l'IL-6 approuvé par la FDA pour l'arthrite rhumatoïdale, arthrite juvénile systémique idiopathique et l'artérite à cellules géantes (37).
- Sarilumab : (KEVZARA) traitement de seconde ligne contre la polyarthrite rhumatoïde, c'est un anticorps monoclonal inhibiteur dirigé contre les récepteurs de l'IL-6, utilisé en association avec le méthotrexate (MTX) chez des patients ayant eu une réponse inadéquate ou intolérante à un ou plusieurs traitements de fond. KEVZARA a également reçu l'AMM européenne pour une utilisation en monothérapie en cas d'intolérance au MTX ou lorsque le traitement avec MTX est inadapté (38).

- Kinases : Des pistes sont explorées pour évaluer la capacité des inhibiteurs de PAK (p21-activated protein kinase) à bloquer l'évolution des infections à Coronavirus. D'ores et déjà, il a été démontré que dans les infections virales la kinase PAK1 joue un rôle prépondérant dans la réplication virale, de l'entrée du virus (chez les adénovirus, poxvirus, rétrovirus, picornavirus), à la dissémination virale (herpèsvirus et rétrovirus), en passant par la tumorigenèse (herpèsvirus et hépadnavirus) et le complexe virus/cellules immunes (rétrovirus). Des travaux de recherche supplémentaires sont néanmoins nécessaires pour apprivoiser totalement le rôle des PAKs dans le signal antiviral et la réponse immunitaire innée (39,40).
- Dexaméthasone : corticoïde synthétique, très largement utilisé pour ses effets anti-inflammatoires (41).
- Ivermectine: antiparasitaire antihelminthique, il est utilisé lors de la prise en charge des anguilluloses gastro-intestinales, de la gale et des microfilarémies à *Wuchereria bancrofti*. En dermatologie, c'est son action anti-inflammatoire qui est appréciée dans l'inflammation de la peau au cours de la rosacée (42).

2. Vaccination

Les vaccins développés se basent sur 7 à 8 technologies différentes (ARN et ADN, vivant atténué et inactivé, protéique et virus like particle (VLP), vecteur viral) (29).

Les tests actuels s'intéressent particulièrement à la protéine S car celle-ci est commune à plusieurs coronavirus humains et elle est facile d'accès pour le système immunitaire de l'individu permettant à celui-ci d'engendrer une réponse immunitaire et une mémoire opérationnelle pour une protection future. De plus, cela inhiberait

l'entrée du virus dans les cellules cibles du virus. Cette technologie a été initiée lors de la recherche d'un vaccin dans l'épidémie de SRAS causée par le SARS-CoV-1 survenue en 2003 (29).

De nombreux vaccins sont en cours de développement (phase II ou III) et certains ont commencé à être administrés à la population sans attendre l'aval de l'OMS. C'est le cas des deux vaccins cubains SOBERANA 02® et Abdala® qui, à cause de problèmes géopolitiques, ont été la meilleure solution apportée à la population. Les entreprises gouvernementales ou alliées au gouvernement ont développé ces deux vaccins protéiques et aujourd'hui la vaccination des enfants à partir de 2 ans est envisagée (43,44). L'évolution de la protection vaccinale des populations selon les technologies administrées pourra faire l'objet de conclusions qui serviront pour le futur.

Le Tableau 1 ci-dessous reprend les principaux vaccins disponibles en France et utilisés dans les schémas vaccinaux depuis janvier 2021.

Vaccin	COMIRNATY BNT162 mRNA (RBD seul)	SPIKEVAX (mRNA-1273)	VAXZEVRIA [AZD1222 (ChadOx1)]	Janssen Covid-19 Vaccine (Ad26COV2.S)
Technologie	ARNm	ARNm	vecteur viral recombinant	Vecteur viral vivant non répliatif de l'adénovirus 26 + formule recombinante
Firme(s)	Pfizer (New- York, NY, USA) et BioNTech (Mainz, Allemagne)	Moderna Therapeutics (Cambridge, MA, USA)	Oxford University/Astra- Zeneca	Janssen (filiale de Johnson & Johnson, USA)
Test clinique	12-17 ans, 18- 64 ans et 65 ans et plus	12-17 ans, 18- 64 ans et 65 ans et plus	>18 ans	>18 ans
Voie d'administration	IM	IM	IM	IM

Schéma vaccinal	2 doses dans un intervalle de 3 semaines	2 doses dans un intervalle de 4 semaines	2 doses dans un intervalle de 4-12 semaines	1 injection
Stabilité	-90 à -60 pdt 6 mois, 5j à 2-8°C, 2h à t°C ambiante, après reconstitution 6h entre 2-30°C	7 mois à -25 - 15, 30j à 2-8°C, 12h à 8-25°C, après ouverture 6h entre 2-25°C	2-8°C pdt 6 mois, après ouverture <6h à <30°C ou 48h à 2-8°C	-25°C à -15°C pdt 2 ans max, 2 à 8°C pdt 3 mois, après ouverture 6h au réfrigérateur et 3h à t°C ambiante
Recommandations	HAS*/EMA* : >12 ans, 2 doses à 6 semaines d'intervalle	HAS*/EMA* : >12 ans, 2 doses à 6 semaines d'intervalle	HAS*: >55 ans, 2 doses à 12 semaines d'intervalle	HAS*: >55 ans
Date d'autorisation de mise sur le marché (AMM)	21/12/2020	06/01/2021	29/01/2021	11/03/2021
Tolérance	Bonne tolérance, effets indésirables d'intensité faible ou modérée	Bonne tolérance, effets indésirables d'intensité faible ou modérée	Effets indésirables d'intensité faible à modérée mais plus fréquent. Très rare syndrome de Guillain-Barré**.	Par rapport au groupe placebo, augmentation des réactions d'hypersensibilité, du risque thrombotique/thrombo-embolique
Efficacité	95% efficacité globale	95% efficacité globale	62-80% lors des essais cliniques 94% (données de la vie réelle)	93% lors des essais cliniques
Sources	(29,45)	(29,45)	(45)	(29,45)

Tableau 1 : Synthèse des vaccins disponibles en France et en Europe après obtention de l'autorisation de mise sur le marché

***(HAS : Haute Autorité de Santé, EMA : agence européenne du médicament)**

****Communiqué AstraZeneca**

Conclusion

A ce jour, les campagnes vaccinales ont débuté dans les différents pays du monde et chacun a choisi sa stratégie. La progression de la vaccination nous montre les difficultés inhérentes à la production et à la politique selon le pays où l'on se trouve.

Au regard de la situation au 05/09/2021, la France compte 77,8% de sa population en âge de se vacciner avec un schéma vaccinal complet soit près de 48 millions de personnes. La tension en réanimation est évaluée à 44% d'occupation des lits. On observe que 8 personnes sur 10 admises en réanimation n'avaient reçu aucune dose de vaccin. La campagne de vaccination met aujourd'hui l'accent sur les 12-18 ans, dernière tranche de la population à avoir eu accès aux vaccins, par le lancement de la vaccination à l'école pour être plus proche du public visé (46).

Dans le monde, le débat sur l'administration d'une 3^{ème} dose a été lancé alors qu'en Afrique l'objectif de 10% de la population vulnérable vaccinée est loin d'être atteint avec des disparités flagrantes entre les Etats. En Israël, pays qui a débuté la vaccination parmi les premiers, les plus de 65 ans ont déjà commencé à recevoir leur 3^{ème} dose. En France, pour l'instant, seuls les patients immunodéprimés sont invités à revenir se faire vacciner.

Malheureusement, il est impossible de conclure cette partie sur la COVID-19 et le SARS-CoV-2 au vu de la situation instable de la pandémie (47), avec les contraintes sanitaires auxquelles nous sommes sujets, la situation sanitaire déplorable à laquelle nous assistons en Outre-Mer et la reprise de l'année scolaire avec un variant δ (delta) majoritaire mais également un nouveau variant μ (mu) qui inquiète la communauté scientifique.

II. Les autres coronavirus hautement pathogènes (SARS-CoV-1 et MERS-CoV)

A. Physiopathologie

1. Taxonomie

Le SARS-CoV-1, responsable du syndrome respiratoire aigu sévère, a la même classification que le SARS-CoV-2 (2). Cependant, le séquençage génomique différencie ces deux virus pour rapprocher ce dernier des coronavirus des chauves-souris.

Le MERS-CoV est un virus à ARN de la famille des *Coronaviridae*, sous-type *Orthocoronavirinae*, genre *Betacoronavirus*, sous-genre *Merbecovirus* (2) dont la chauve-souris est le réservoir animal et le dromadaire est l'hôte intermédiaire.

2. Epidémiologie

Le SARS-CoV-1 a été identifié pour la première fois à Foshan (Chine) en novembre 2002 et l'épidémie s'est répandue dans toute la Chine durant le 1^{er} trimestre 2003. Des cas ont été répertoriés dans 29 pays, notamment en Amérique du Nord et en Europe où le virus a été importé rapidement à cause du transport aérien de passagers (17). Selon l'OMS, on dénombre dans la période où l'épidémie a sévi (novembre 2002 à juillet 2003) 8 096 cas probables signalés, dont 774 décès, soit un taux de létalité de 9,6% (1). En France, sur la période de mars 2003 à juillet 2003, il

a été rapporté 437 cas possibles, 7 cas probables ont été retenus, dont un décès, et 77 cas contacts. Aucune transmission secondaire n'a été observée sur le territoire français (1). A la suite de l'épidémie, des cas probables ont été rapportés à Singapour, Taiwan et en Chine entre septembre 2003 et mai 2004. Cependant, aucun nouveau cas n'a été suspecté depuis mai 2004 (17).

Le premier cas de MERS-CoV a été rapporté en Arabie Saoudite en 2012 chez un patient décédé des suites d'une pneumonie aiguë accompagnée d'une défaillance rénale. Ce virus s'est diffusé dans toute la péninsule arabe avant d'atteindre d'autres pays comme la Corée du Sud et la France par l'intermédiaire de voyageurs de retour de cette zone (17,48). En janvier 2020, l'OMS comptabilisait 2 519 cas confirmés et 866 décès survenus dans 27 pays avec environ 80% des cas signalés uniquement en Arabie Saoudite (48,49). L'éventail de la mortalité va de 7% chez les sujets jeunes à 40% chez les 60 ans et plus et une moyenne de 35% environ de mortalité générale (48,49).

3. Structure du SARS-CoV-1

Le SRAS (syndrome respiratoire aigu sévère) est la première maladie infectieuse émergente du 21^{ème} siècle, l'épidémie causée par le virus que l'on appelle aujourd'hui SARS-CoV-1 (50). Le virus présente une structure générale semblable à celle du SARS-CoV-2 (Figure 1) et leurs différences seront abordées par la suite.

a) Protéine S

La protéine spike (S) est une glycoprotéine de l'enveloppe du virus. Elle présente une forme typique en pétale à la surface du virion et se compose de trois domaines. Le domaine N-terminal, qui est externe, comporte les sous-domaines S1 et S2, suivi d'un domaine transmembranaire et enfin s'achève par un court domaine cytoplasmique à l'extrémité C-terminal. Comme pour tous les coronavirus, elle remplit le rôle de protéine d'attache à la cellule cible. La seule différence dans sa fonction réside dans la conformation de son sous-domaine S1 qui implique un changement de récepteur pour l'entrée dans la cellule cible chez l'hôte (51).

b) Protéine N

La protéine de la nucléocapside est une phosphoprotéine similaire à celle des autres coronavirus. Durant l'infection, elle est davantage exprimée et des anticorps anti-N ont été détectés chez des patients SRAS positif. Par ailleurs, elle est utile dans le diagnostic de l'infection, lors des examens par PCR, grâce à l'expression de son site le plus antigénique entre les codons 371 et 407 (52–56).

c) Protéine M

La protéine matrix (M) est la protéine structurale la plus abondante à la surface des particules virales. Elle contient trois domaines transmembranaires, une extrémité N-terminal ectodomaine courte et une extrémité C-terminal endodomaine longue (57).

d) Protéine E

La protéine d'enveloppe (E) est le composant le plus important de l'enveloppe virale, c'est une protéine membranaire intégrale composée de 76 acides aminés et hautement hydrophobe dans la nature. Dans les cellules de mammifères, elle est localisée dans le reticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et les sillons lipidiques des membranes cellulaires. Son domaine transmembranaire altère la perméabilité de la membrane (58).

e) ORF 3a

La protéine 3a encode un cadre de lecture ouvert dont la fonction n'est pas connue et il ne montre aucune homologie avec une quelconque protéine. Elle a été détectée à la fois dans le parenchyme pulmonaire d'un patient SRAS positif et dans les cellules Vero E6 (lignée cellulaire d'épithélium de rein de singe vert africain, *Chlorocebus sabaeus*) infectée par le SARS-CoV-1. Dans ces dernières, de l'ARNm de la protéine 3a a aussi été détecté. Il est suggéré qu'elle joue un rôle dans l'assemblage du virus et/ou son relargage depuis une cellule infectée de par son interaction avec les protéines M, E et S (59). De plus, l'ORF 3a pourrait avoir un rôle important dans la modulation de l'excrétion du virus, comme cela est montré par Lu et al. (60), par une corrélation entre la diminution de l'expression de la protéine 3a et la baisse de l'excrétion virale dans les cellules FRhK-4 (cellules épithéliales de rein de macaque rhésus, *Macaca mulatta*) infectées par le SARS-CoV-1. Il a été démontré un accroissement du fibrinogène dans les cellules épithéliales du poumon

dû à l'ORF 3a, ce qui a également entraîné l'augmentation du fibrinogène extracellulaire (61).

f) ORF 7a

L'ORF 7a présente un profil similaire à l'ORF 3a. La surexpression de la protéine 7a semble induire l'apoptose via un mécanisme caspase-dépendant dans diverses lignées cellulaires dérivées des poumons, des reins et du foie (62).

4. Structure du MERS-CoV

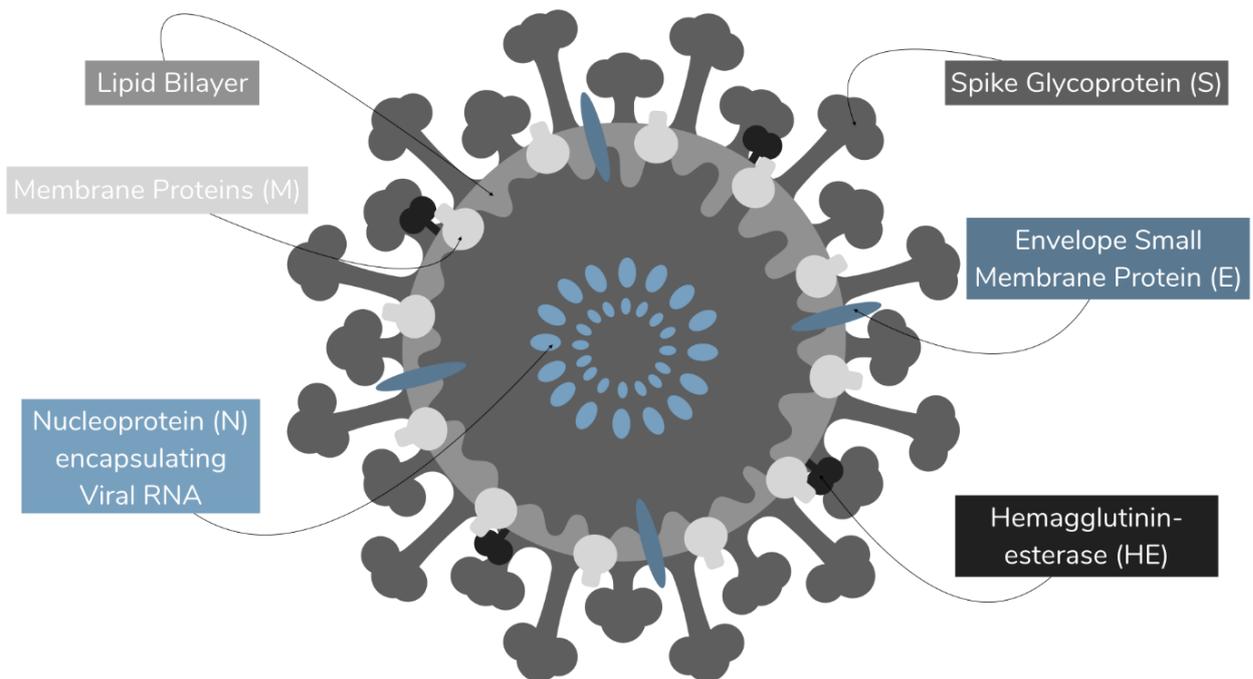


Figure 7: Structure schématisée du MERS-CoV (63)

Le MERS-CoV, représenté dans la Figure 7, est un *Betacoronavirus* membre de la lignée B dont le génome est à ARN simple brin enveloppé et encodant 10 protéines :

- 2 polyprotéines de réplicase ORF 1a et 1b
- 4 protéines structurelles : une protéine d'enveloppe de la petite membrane (E), une nucléoprotéine qui encapsule l'ARN viral (N), une protéine de membrane (M) et une glycoprotéine crampon de surface (S)
- 5 protéines non structurales (ORF 3, 4a, 4b, 5 and 8b) (64,65)

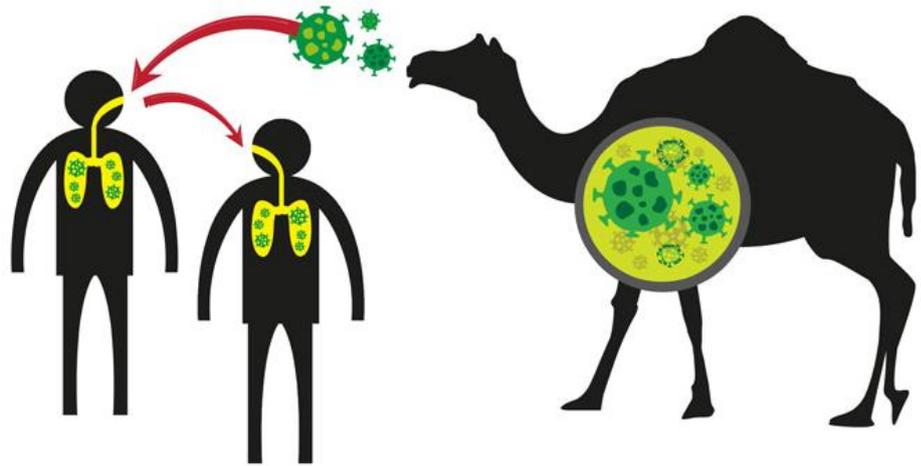
C'est le dipeptidyl peptidase 4 (DPP4 ou CD26) présent à la surface des cellules épithéliales bronchiques non ciliées qui servirait de récepteur fonctionnel qui enclenche l'invasion. Le MERS-CoV se lie au DPP4 de la cellule hôte grâce à la protéine spike (S) ce qui entraîne la fusion du virus avec la membrane cellulaire, puis l'entrée de l'ARN viral dans le cytoplasme de la cellule hôte. ORF1a et ORF1b sont traduites en polyprotéines et clivées par les protéases virales encodées en protéines matures non structurales. L'ARN subgénomique et génomique est répliqué et encapsulé dans des nucléoprotéines dans le cytoplasme puis transporté vers le compartiment intermédiaire endoplasmique du reticulum de Golgi (ERGIC) pour un assemblage futur. Les protéines crampon, de membrane et d'enveloppe sont aussi insérées dans le ERGIC pour rejoindre l'ARN encapsulé nucléoprotéique et former des particules virales. Les vésicules bourgeonnées contenant les particules virales matures sont ensuite transportées vers la surface de la cellule pour relargage après maturation dans le corps de Golgi. Une fraction de l'ARN générée via la réplication virale est un ARN double brin et peut, à ce moment, être détecté par l'hôte, ce qui amène à une réponse immunitaire (63).

5. Modèle animal

Le SARS-CoV-1 tient pour hôte intermédiaire la civette de palmier (*Paguma larvata*) mais c'est encore la chauve-souris qui tient le rôle d'hôte primaire. Le virus a pu se transmettre de la civette à l'homme car cet animal est vendu dans des marchés d'animaux exotiques vivants (17). Des analyses génétiques ont pu mettre en évidence des similitudes entre un virus découvert en Chine, peu de temps avant l'épidémie, dans une colonie de petit Rhinolophe (chauve-souris de la famille des rhinolophidés), le virus découvert chez la civette et le SARS-CoV-1 (66).

Le MERS coronavirus se développe chez le chameau et le dromadaire malades (hôtes intermédiaires) à partir d'une souche de virus de chauve-souris commune (hôte primaire) comme le montre l'article de Ramshaw et al. (67). La présence de cas chez ces animaux a été reportée dans la péninsule arabique, la Jordanie, l'Iraq, Israël, le Pakistan, le Bangladesh, l'Égypte, le Soudan, l'Éthiopie, le Kenya, le Nigeria, la Tunisie, le Maroc, les Canaries, le Burkina Faso et le Mali. Tous ces pays correspondent à des zones d'élevage et donc de contact entre l'homme et l'animal. C'est un virus enzootique infectant le tractus respiratoire supérieur du dromadaire (67).

L'explication de l'interconnexion entre le dromadaire, l'environnement et l'homme dans l'infection à MERS-CoV reste à approfondir (67). Par contact direct avec le dromadaire, l'homme va s'infecter (Figures 8 et 9). La transmission interhumaine se fait par contact direct, gouttelettes respiratoires ($>5\mu\text{m}$) ou par aérosols pour le SARS-CoV-1 (68) et le MERS-CoV (48).



MERS-COV
Middle East Respiratory Syndrome

Figure 8: Transmission inter-espèce et interhumaine du MERS-CoV (69)

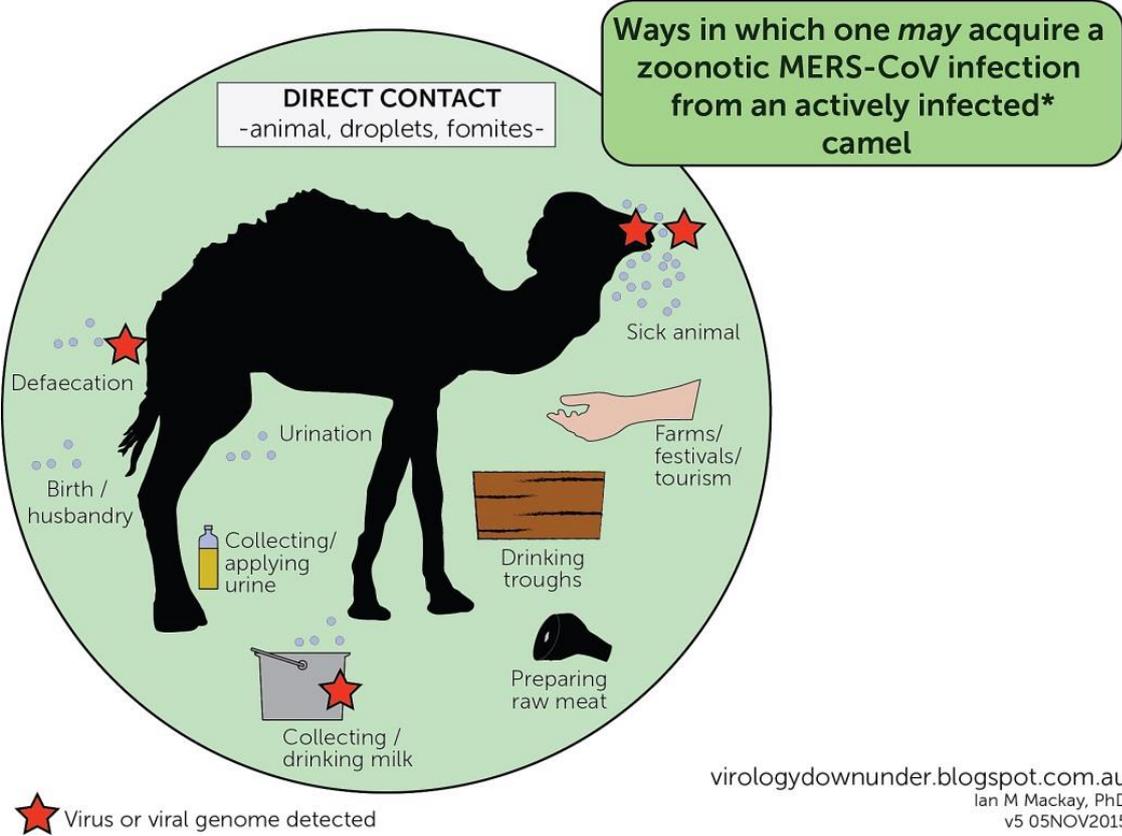


Figure 9 : Transmission inter-espèce du MERS-CoV par les déjections, le lait et les gouttelettes expulsées par l'animal (70)

6. Cible chez l'homme

La cible du SARS-CoV-1 est le récepteur ACE-2 comme pour le SARS-CoV-2. Il a été montré que dans une culture cellulaire comprenant des syncytia exprimant ACE-2 et le domaine S1 du SARS-CoV-1, l'ajout d'anticorps anti-ACE-2 inhibait ce dernier. Ainsi, des anticorps spécifiques dirigés contre la sous-unité S1 du SARS-CoV-1 sont capables de neutraliser l'infection (50).

C'est le dipeptidyl peptidase 4 (DPP4 ou CD26) présent à la surface des cellules épithéliales bronchiques non ciliées qui servirait de récepteur fonctionnel et initierait l'invasion cellulaire dans le cas du MERS-CoV (67).

B. Clinique

1. Evolution dans la population générale

La période d'incubation est d'environ 5 jours pour le MERS-CoV et elle est similaire pour le SARS-CoV-1 avec 2 à 7 jours voire 10 jours d'incubation (68).

La majorité des patients avec SARS-CoV-1 était des adultes en bonne santé de 25 à 70 ans et peu d'entre eux, des enfants de moins de 15 ans (68). Par analyse phylogénétique, le SARS-CoV-1 est modérément lié à 2 autres coronavirus OC43 et 229E connus pour donner des rhumes. Il se manifeste par de la fièvre (>38°C), des myalgies, des frissons, une toux sèche pouvant évoluer vers une hypoxie, des diarrhées (10-20% des patients), des difficultés respiratoires évoluant en pneumonie fréquemment mais pas systématiquement ainsi que des maux de tête (17,50,68).

Ces symptômes sont proches de ceux de la grippe et des infections à influenza. Les patients âgés et les patients immunodéprimés sont plus vulnérables au virus et ils sont surreprésentés dans les décès causés par le virus (71,72). Bien que décrite comme une maladie systémique, le SARS-CoV-1 affecte principalement les poumons avec des symptômes semblables à une pneumonie (50).

Un MERS doit être suspecté chez tout patient présentant une infection fébrile aiguë inexplicée des voies respiratoires inférieures et répondant à l'une de ces caractéristiques dans les 14 jours suivant l'apparition des symptômes (73):

-séjour dans une région endémique

-présence dans un établissement de santé où le MERS a été transmis

-contact étroit avec un patient chez qui on suspectait un MERS

Le MERS touche principalement les hommes âgés avec des comorbidités telles que le diabète mellitus, la cirrhose et les insuffisances respiratoire, rénale et cardiaque. Ceux-ci évoluent vers un tableau sévère avec toux, fièvre et une symptomatologie du tractus respiratoire supérieur évoluant vers une détresse du tractus respiratoire inférieur (49). Les patients hospitalisés avec une pneumonie évoluent progressivement vers un syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA) et une défaillance multi-viscérale (49). Les rares cas pédiatriques sont à prédominance asymptomatiques même si un cas mortel a été reporté en Arabie Saoudite (49). Cependant, 21% des patients ont été asymptomatiques ou peu symptomatiques. La symptomatologie gastro-intestinale est retrouvée chez environ 1/3 des patients (73).

2. Suivi à 1 an de patients MERS en Corée du Sud

Dans une étude menée en Corée du Sud, 11 patients ont été suivis pour observer leur titre d'anticorps en réponse à une infection au MERS-CoV. La conclusion apportée à cette étude est que les patients ayant eu une infection sévère oxygéno-requérante produisent une réponse immunitaire robuste et voient leur titre d'anticorps diminuer par la suite tout en restant significatif et stable à un an. Au contraire, les patients avec infection modérée ou asymptomatique ont tendance dans la majorité des cas à ne pas produire d'anticorps de manière significative ni au pic de l'infection, ni après un an de suivi (74). De plus, il est montré que la thérapie par plasma de patients en phase de convalescence était risquée car nécessite le prélèvement de plasma chez un patient en début de convalescence avec un titre élevé d'anticorps donc plus susceptible d'être fragilisé (74).

3. Comparaison entre SARS-CoV-1 et MERS-CoV

MERS et SARS-CoV-1 se différencient malgré des similitudes notables. En effet, la proportion de cas mortels est beaucoup plus élevée dans les cas de MERS (50% en 2013 et 30-40% en 2019) que pour le SARS-CoV-1 (9%) et un taux de mortalité largement supérieur est associé au sexe masculin, l'âge avancé et les comorbidités. En termes de physiopathologie, on retrouve chez le MERS-CoV, un tropisme plus grand, une meilleure croissance *in vitro*, une induction des modifications cytogénétiques plus rapide, un ciblage de la réponse transcriptionnelle et un récepteur différent, la création d'un état pro-inflammatoire plus important et l'enclenchement tardif de la réponse antivirale innée par rapport au SARS-CoV-1 (48,74).

4. Structure génomique des coronavirus hautement pathogènes

On représente le génome des coronavirus en respectant le sens suivant : 5'-ORF1a-ORF1b-S-E-M-N-3'. ORF1a et ORF1b encodent pour des gènes accessoires des protéines non structurales (nsp) qui sont au nombre de 16 (nsp1 – nsp16). Quatre gènes structuraux encodent pour 4 protéines structurales, les protéines de surface (S), membranaire (M), d'enveloppe (E) et de nucléocapside (N). Avec ces protéines structurales, l'extrémité 3' des SARS-CoV-2 et 1 contient 8 protéines accessoires (respectivement 3a, 3b, p6, 7a, 7b, 8b, 9b et orf14 ainsi que 3a, 3b, p6, 7a, 7b, 8a, 8b et 9b) alors que MERS-CoV n'en contient que 5 (3, 4a, 4b, 5 et 8b). Ainsi, les gènes encodant les protéines accessoires sont spécifiques à chaque coronavirus en nombre, en organisation, en séquence et en fonctions (Figure 10) (75).

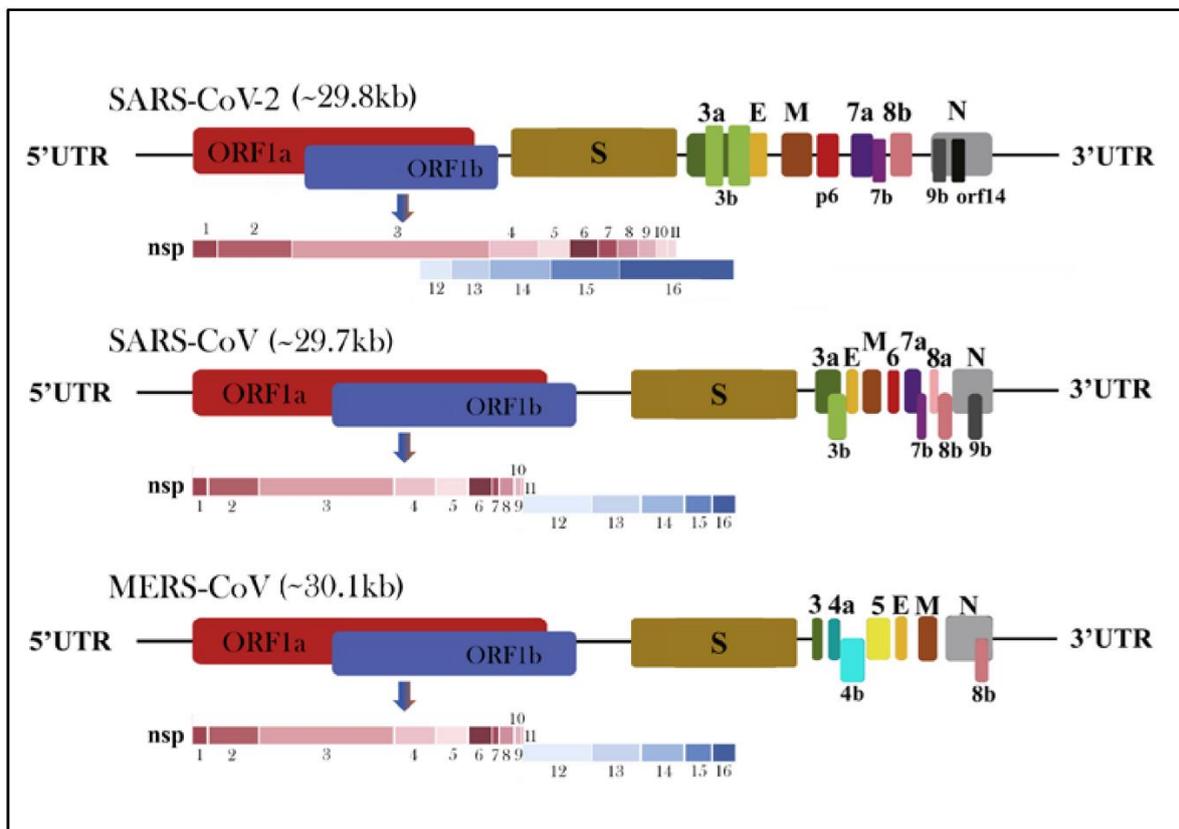


Figure 10: Graphique représentant les structures génomiques des SARS-CoV-2, SARS-CoV-1 et MERS-CoV (75)

C. Diagnostic

1. Biologie

Chez les patients atteints par le SARS-CoV-1, on note une lymphopénie, une thrombopénie et une augmentation de la lactate déshydrogénase (LDH) et de la protéine C-réactive (CRP) (71).

Chez les patients atteints par le MERS-CoV, on relève une thrombopénie et une lymphopénie, des signes de lésions rénales aiguës, LDH et ASAT augmentés, une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) et une hémolyse chez certains patients (73). L'examen de confirmation est la RT-rtPCR (reverse transcriptase real time polymerase chain reaction), examen de biologie moléculaire sur un prélèvement du tractus respiratoire inférieur (76). Les cibles de la technique sont les ORF 1a et 1b (49).

Des tests de détection antigénique ont été mis au point par technique immunochromatographique détectant la protéine recombinante de la nucléocapside du MERS-CoV (protéine N) depuis un prélèvement nasal de dromadaire offrait une sensibilité de 94% et une spécificité de 100% en comparaison avec la RT-rtPCR (77).

La culture virale est réalisée dans des cellules Vero et LLC-MK2, une lignée cellulaire épithéliale d'adénocarcinome colorectal (Caco-2) pour isolation des infections MERS-CoV. C'est une méthode lente, spécialisée et peu sensible contrairement aux techniques basées sur la PCR qui lui seront préférées (49).

En sérologie, les anticorps dirigés contre le MERS-CoV sont détectés, signe d'une infection antérieure. Par la technique ELISA, on détecte les anticorps spécifiques dirigés contre les protéines N et S du MERS-CoV. Un échantillon positif en ELISA est analysé par un test de micro neutralisation pour confirmation. Les tests sérologiques sont valables pour la surveillance de l'immunité du patient ou à des fins de recherche mais surtout pas pour le diagnostic (76). Certains tests ELISA détectent les IgG humaines anti-protéine S du MERS-CoV (74).

2. Imagerie

Les examens radiologiques des patients diagnostiqués positif au MERS-CoV ont révélé des atteintes multilobulaires, des opacités en verre dépoli, des infiltrations du parenchyme pulmonaire et, parfois, des épanchements pleuraux (17,74). On peut remarquer que ces anomalies radiologiques sont semblables à celles observées chez les patients atteints par SARS-CoV-2. Il en est de même pour SARS-CoV-1.

D. Prise en charge

1. Prise en charge actuelle

Chez les patients asymptomatiques et pauci symptomatiques, le traitement se limite à des soins de support. Pour les cas graves, une hospitalisation voire un transfert en soins intensifs est nécessaire pour maintenir les fonctions vitales des organes pour les deux pathologies.

Des précautions habituelles contre la transmission par le contact et par l'air sont à utiliser par les soignants pour s'occuper de ces patients.

Il n'y a pas de vaccin, ni de traitement antiviral spécifique (48,73).

Différentes mesures de précautions peuvent être prises, pour toute personne en contact avec les dromadaires dans des fermes, des marchés ou des étables ou pour des consommateurs de produits d'origine animale, en appliquant un lavage régulier des mains avant et après avoir touché un animal, éviter tout contact avec les animaux malades, consommer des produits cuits ou pasteurisés correctement. En effet, les produits d'origine animale sont habituellement consommés dans les zones d'élevage car ils ont une grande valeur nutritive (48).

2. Recherche, thérapies innovantes, vaccin

A l'heure actuelle, il n'y a pas de vaccin ou traitement. Le besoin de développer de nouvelles thérapies est donc urgent. L'acide mycophénolique semble donner de bons résultats par comparaison avec la ribavirine dans le traitement du MERS-CoV selon l'étude menée par Hart et al. (78).

En termes de vaccination, il n'y a pas encore de vaccin commercialisé mais deux technologies sont en phase de tests sur la souris, un vaccin avec vecteur viral et un vaccin basé sur le domaine RBD du virus.

- MERS-CoV Viral Vector-Based Vaccine : vaccin du virus Ankara recombinant modifié, offre un bon niveau de protection contre le MERS et le SARS-CoV dans le modèle murin.

- MERS-CoV-RBD-Based Vaccine : très efficace et plus sûr que les candidats avec vecteur viral. L'immunisation des souris montre une protection sur le long terme. L'une des stratégies de développement choisie est le ciblage du domaine RBD du MERS-CoV(79).

Conclusion

Avec l'apparition du SARS-CoV en 2002, puis du MERS-CoV en 2012 et maintenant du SARS-CoV-2 en 2019, nous observons que ces dernières années les coronavirus sont apparus comme de variables menaces pour la santé publique au niveau mondial à cause de l'absence de vaccins et de traitements antiviraux. Leur émergence a cependant permis la multiplication des études sur les réponses immunitaires innée et adaptative, dans l'induction de la clairance du virus, l'inhibition de la réplication virale et la réalisation de la réparation tissulaire. Par ailleurs, les réponses immunitaires jouent un rôle important dans la pathogénicité SARS. Ainsi, le SARS-CoV-2 a été décrit comme une maladie à cytokines médiées d'où l'importance de contrôler les réponses immune et inflammatoire. Les stratégies thérapeutiques vont continuer à être discutées jusqu'à une compréhension parfaite du rôle des cellules immunitaires (4).

Dans ce domaine, les progrès effectués pendant la crise ont par exemple amené à l'utilisation de molécules inductrices d'interféron pour réguler la réponse de l'hôte et réduire la mortalité due au SARS-CoV-2, expliquant l'association faite entre IFN- γ et IFN de type 1 pour maximiser les effets (21).

III. Réponse immunitaire antivirale

Introduction

Le système immunitaire inné est capable d'attaquer n'importe quel micro-organisme, même si celui-ci mute, car il n'y a pas besoin de récepteurs spécifiques: il ne faut pas oublier que les micro-organismes qui n'expriment plus de formes fonctionnelles de leurs récepteurs spécifiques sont de facto inopérants (pas d'infection, ni de colonisation de l'hôte). La réponse du système immunitaire inné est toujours la même à chaque rencontre avec un agent pathogène. A contrario, le système adaptatif se souvient de chaque rencontre avec un micro-organisme, ce qui lui permet de s'adapter lors d'une nouvelle rencontre. On appelle ce phénomène la mémoire immunologique. Il faut noter que l'immunité adaptative est rendue inefficace dès lors que des mutations des antigènes portés par les pathogènes apparaissent. Ces mutations doivent permettre à ceux-ci de rester viable.

A. Immunité innée

Introduction

La réponse immunitaire innée est la première ligne de défense contre les infections. Elle comprend plusieurs barrières, à commencer par les barrières externes (peau, muqueuses, cils, sécrétions et fluides tissulaires).

Comme dit précédemment, le SARS-CoV-2 fait son entrée dans les cellules par l'intermédiaire du récepteur ACE-2 qui est présent à la surface des cellules du poumon et du tractus gastro-intestinal. Les lésions pulmonaires observées semblent causées par la destruction virale des macrophages et des cellules épithéliales bronchiques et alvéolaires. Les cellules du système immunitaire inné expriment des récepteurs reconnaissant le pathogène (PRRs) pour repérer les motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP) dont les récepteurs de lectines de type C, les récepteurs NOD-like (NLRs), les récepteurs RIG-1-like (RLRs) et les récepteurs Toll-like (TLRs). Les virus à ARN tels que les coronavirus sont reconnus par des détecteurs à ARN cytosolique et endosomique dont RIG-1 et les TLRs (TLR2, TLR3 et TLR7). Dans l'étude (80), il a été montré que l'activation de TLR3 avec l'acide polyinosinique-polycytidylique (poly I:C) peut inhiber l'infection à coronavirus. La reconnaissance du virus à ARN active le facteur nucléaire kappa B (NF- κ B) et IRF3, enclenche la translocation dans le noyau et induit la production des cytokines pro-inflammatoires, chimiokines et IFN de type 1 par les monocytes/macrophages et les cellules dendritiques (4).

1. Les interférons

Les interférons sont des cytokines produites dans les réponses antimicrobienne et antivirale dont l'une des grandes caractéristiques est l'inhibition non spécifique de la croissance virale par l'induction d'un « état antiviral » dans les cellules. Il existe différents types d'interférons. Le type I regroupe principalement les IFN- α et IFN- β , le type II comporte uniquement l'IFN- γ et, enfin, le type III comprend les IFN- λ 1, λ 2 et λ 3 connus sous les noms respectifs d'interleukine-29, 28A et 28B (81).

Lors de la réponse antivirale, les interférons de type I et III sont sécrétés par les cellules infectées ou les cellules dendritiques plasmocytaires (pDCs) après stimulation par l'infection ou d'autres stimuli. On observe que même si le cheminement vers les récepteurs de type I et III est semblable, la conformation des récepteurs reste différente (82).

Dans une étude regroupant 50 patients COVID-19 positifs à des degrés divers de sévérité, les patients sévères et critiques présentaient une réponse interférons de type I fortement dégradée. Une production et une activité faible de l'IFN- α , ainsi qu'une absence d'IFN- β étaient associées avec une charge virale persistante et une réponse inflammatoire accrue. L'inflammation était conduite en partie par le NF- κ B lié à une augmentation de la production et de la détection de TNF-alpha et IL-6. Cette étude suggère ainsi que le déficit en interférons de type I pourrait être considérée comme une caractéristique de la gravité d'une infection à COVID-19, ce qui justifierait les tentatives de thérapies ciblées (83).

2. Les lymphocytes NK

Les lymphocytes NK (natural killer ou cellules tueuses naturelles) sont de grands lymphocytes à grains avec une activité cytotoxique. Ils sont détectables environ 2 jours après le début d'une infection virale suite à leur prolifération non spécifique induite par les interférons de type I et l'interleukine-15 (IL-15). Ils sont capables d'identifier des cellules altérées soit par une tumeur soit par une infection virale et de lyser directement les cellules infectées par le mécanisme perforine-granzyme et par la production d'IFN- γ , qui active les mécanismes antiviraux des macrophages. Les lymphocytes NK sont également considérés comme des effecteurs de la cytotoxicité

cellulaire dépendant des anticorps (ADCC, antibody-dependent cellular cytotoxicity) (84).

3. La phagocytose

La phagocytose est réalisée par les neutrophiles, les monocytes et les macrophages, qui sont appelés phagocytes car ils réalisent ce processus d'ingestion par endocytose. Leur rôle est très important dans le système immunitaire inné car ils se lient aux micro-organismes en reconnaissant leurs PAMP, les internalisent et les tuent. Cette réponse certes primitive est efficace et cela explique que des personnes présentant un déficit immunitaire concernant certaines cellules phagocytaires ne réussissent pas à survivre à une infection en bas âge (84).

Les phagocytes peuvent réaliser leur mission seuls mais ils sont souvent aidés par des molécules qui font le lien entre eux et les micro-organismes à phagocyter, on les appelle les opsonines (84).

Les micro-organismes opsonisés sont ingérés par les phagocytes qui les entourent à l'aide de pseudopodes qui fusionnent pour internaliser le micro-organisme dans un phagosome. Celui-ci fusionne avec des granules et des lysosomes pour former un phagolysosome qui digère l'agent pathogène grâce à des enzymes. Les macrophages forment des dérivés microbicides de l'oxygène (ROI, reactive oxygen intermediates) en diminuant l'oxygène moléculaire et les libèrent dans le phagosome. Lors d'une lésion tissulaire, les mécanismes de l'inflammation se mettent en route. On constate une augmentation de l'apport sanguin dans la zone infectée, une rétraction des cellules endothéliales ce qui augmente la perméabilité capillaire et permet aux macromolécules de diffuser hors des capillaires et, enfin, la migration des

neutrophiles des veinules vers les tissus voisins, au début de la réaction, suivi par les monocytes et les lymphocytes (84).

Le chimiotactisme décrit le cheminement des phagocytes depuis les veinules vers le foyer inflammatoire. Il commence par la migration des chimiokines qui activent les leucocytes circulants et favorisent leur adhérence à l'endothélium. Ensuite, la fraction C5 du complément est clivée et donne le C5a, un peptide qui attire les phagocytes circulants. Ceux-ci passent entre les cellules endothéliales des veinules, traversent la membrane basale pour arriver dans les tissus et sont attirés vers le foyer infectieux en luttant contre un gradient de molécules chimiotactiques (84).

B. Immunité adaptative

Introduction

Les enjeux auxquels répond le système immunitaire inné sont la détection de constituants microbiens (paroi bactérienne) et l'augmentation de l'expression des molécules co-stimulatrices à la surface des CPA, ce qui leur permet d'initier efficacement la réponse cellulaire T et indirectement B. Les cellules T activées vont libérer des cytokines qui agissent comme un signal pour les phagocytes qui leur ordonne de détruire les pathogènes internalisés. Les échanges entre les cellules T et les CPA sont donc bidirectionnels.

1. Les anticorps antiviraux

Une grande partie des patients infectés avec le SARS-CoV-2 opère leur séroconversion 5 à 15 jours après le début des symptômes, dont environ 90% de séroconversion à J10 (85–89). Les premiers antigènes étudiés dans la séroconversion sont dirigés contre la protéine de surface (Spike ou S) et la protéine de la nucléocapside (N). Les titres d'immunoglobulines G (IgG) anti-N et anti-S sont fortement corrélés (90). Chez les individus infectés, les IgG, IgA et IgM anti-S se développent spontanément (87,89,91).

Plusieurs mécanismes de destruction des pathogènes existent et parmi ceux-ci la neutralisation grâce à la fixation d'un anticorps. Si l'anticorps est dirigé contre une protéine d'enveloppe comme chez certains rhinovirus, il pourra neutraliser le pathogène par simple fixation, empêchant par la même occasion la pénétration du virus dans la cellule de l'hôte (84).

Les anticorps (Ac) neutralisants sont produits rapidement dans la plupart des cas de patients infectés, dans le même laps de temps que la séroconversion (21). La présence d'Ac neutralisants est un facteur important dans la prévention des réinfections. La protéine S est la cible des anticorps neutralisants du SARS-CoV-2 avec dans plus de 90% des cas, le domaine de liaison du récepteur (RBD) de la protéine S qui est concerné (89,90,92–94). Cependant, quelques anticorps neutralisants vont cibler le domaine N-terminal (NTD) (95). Les estimations de séroconversion contre la protéine S du virus sont de l'ordre de 91-99% dans un nombre non négligeable d'études (96,97). Les Ac neutralisants sont produits par les lymphocytes B et ils sont peu exposés aux hypermutations non somatiques (93,94,98). L'ensemble de ces données montre que leur développement est

relativement aisé puisqu'il peut être réalisé par les lymphocytes B avec peu ou pas d'affinité de maturation. De plus, il apparaît que cette réponse apportée par les Ac neutralisants viendrait généralement des cellules B naïves et non des B mémoires préexistantes issues de réactions croisées (99–103). Par ailleurs, les épitopes du domaine RBD du SARS-CoV-2, notamment ceux correspondants au site de liaison avec le récepteur ACE-2, semble dévoiler une haute immunogénicité et une reconnaissance facile des anticorps. Cependant, il est important de relever que le titre d'Ac neutralisants contre le SARS-CoV-2 est relativement bas chez un nombre non négligeable de patients convalescents à la COVID-19 (93,97,104). On peut en déduire que cela vient soit de la puissance des Ac neutralisants, soit de la concentration du sérum qui est sous-optimale dans les cohortes de patients étudiées (21).

Si les anticorps peuvent empêcher l'invasion cellulaire par le virus, ils sont également capables de tuer les cellules infectées par ce dernier (105), ce qui est important dans le mécanisme d'action des anticorps *in vivo* (105,106). Pour le moment, il n'est pas possible de l'affirmer dans l'infection à SARS-CoV-2 chez l'homme (107).

Selon l'état de la science, les différents modèles animaux concluent à ce que, plus la charge en antigène, donc la sévérité de la maladie, est forte plus le titre d'anticorps est élevé. Le SARS-CoV-2 répond à la même logique quand on observe que le titre des anticorps neutralisants chez les patients est corrélé avec la gravité de la COVID-19 dans différentes cohortes de patients (90,93). Les mêmes conclusions ont émergé pour le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV (108).

Enfin, les anticorps peuvent activer le complément, déclenchant la cascade complète jusque l'assemblage du complexe d'attaque membranaire ou l'opsonisation du pathogène par la fraction C3b du complément (84).

2. Le complément

Le système du complément compte environ 20 protéines sériques dont la fonction est le contrôle de l'inflammation. Grâce à l'activation de la « voie alterne » du complément, un certain nombre de micro-organismes subit une opsonisation. Le nom opsonisation vient du latin opsono qui signifie « préparer des victuailles », les opsonines servent donc à améliorer la reconnaissance, la liaison et l'internalisation des micro-organismes. En pratique, les agents pathogènes sont recouverts par des molécules du complément ce qui favorise leur capture par des phagocytes. C'est un mécanisme immunitaire inné. Ce rôle est occupé par la fraction C3b du complément.

Par ailleurs, le phagocyte présente un récepteur Fc à sa surface auquel se lie un anticorps dont la liaison avec l'antigène correspondant du pathogène par son épitope créera une liaison forte et facilitera la phagocytose.

La « voie classique » du complément est activée par les anticorps ou la lectine liant le mannose que l'on trouve à la surface des agents pathogènes. L'activation du complément est une réaction en cascade. Cette activation engendre des molécules protéiques ou des fragments peptidiques qui déclenchent l'opsonisation des micro-organismes, l'attraction des phagocytes dans le foyer infectieux (chimiotaxie), l'augmentation du flux sanguin dans le site d'activation et l'augmentation de la perméabilité des capillaires, l'altération de la membrane plasmique des cellules, virus enveloppés, entraînant la lyse de la cellule infectée ou du virus et donc une diminution de l'infection (84).

3. La réponse T spécifique

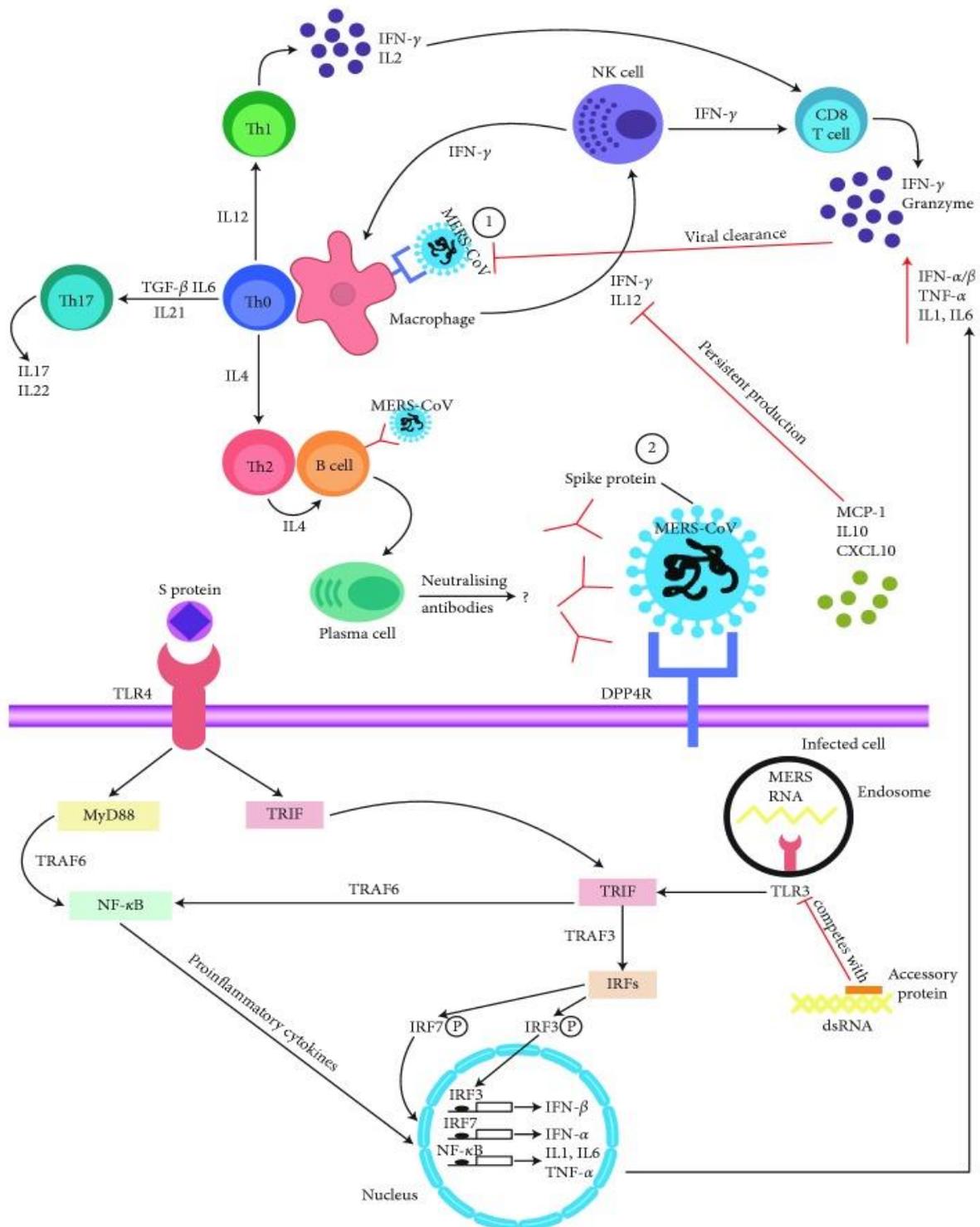


Figure 11 : Représentation de la réponse immunitaire aux coronavirus sur le modèle du MERS-CoV : invasion et lutte antivirale (79).

Dans la circulation sanguine, le coronavirus infecte les macrophages en se liant aux récepteurs spécifiques au virus concerné, ce qui leur permet de présenter les antigènes du coronavirus aux cellules Th0. Cela entraîne l'activation et la différenciation des cellules T, la production des cytokines associées aux cellules Th1, Th2 et Th17, pour se terminer par le relargage massif des cytokines lors de l'amplification de la réponse immunitaire (Figure 11). La persistance du virus chez l'homme maintient la production des éléments suscités, ce qui a pour effet d'inhiber la production d'interleukine 12 (IL-12) et d'interféron gamma (IFN- γ) par les lymphocytes Th0, NK et T CD8+. Toutefois, les lymphocytes T CD8+ produisent suffisamment d'IFN- γ et de granzymes pour éliminer le coronavirus. Pendant cette période des anticorps neutralisants sont produits pour lutter contre ce virus mais il n'est pas encore possible de savoir si leur action protectrice s'inscrit à court ou à long terme (Figure 11).

Les récepteurs spécifiques aux coronavirus situés à la surface des cellules hôtes vont eux aussi se lier au virus par le biais de sa protéine S. Ainsi, le coronavirus va être internalisé par endocytose dans le cytoplasme cellulaire et libérer son ARN viral dans l'endosome. Durant sa phase de réplication, l'ARN simple brin (ARNsb) qui devient ARN double brin (ARNdb) peut initier une réponse immunitaire partielle. Le TLR3 (Toll-like receptor 3) est activé par l'ARNdb et de multiples signaux comme les IRFs par l'intermédiaire du TRAF3 et le NF- κ B via le TRAF6 pour produire les cytokines pro-inflammatoires et les interférons de type I. La production des interférons de type I est cruciale pour débiter la libération de protéines antivirales, protectrices pour les cellules non infectées contre le coronavirus. Cependant, il arrive que le virus échappe à la réponse immunitaire en empêchant l'activation du TLR3 grâce à l'action des protéines accessoires du coronavirus qui lient l'ARNdb viral au

moment de la réplication et interfèrent, par cette action, avec le signal du TLR3 (Figure 11) (79).

Toujours à la surface cellulaire, le TLR4 est également capable de reconnaître la protéine S et initier la production de cytokines pro-inflammatoires via le signal dépendant du MyD88. Les médiateurs immunitaires sont produits en nombre du fait de l'interaction entre le virus et la cellule. Pour répondre à la menace du coronavirus, une grande quantité de chimiokines et de cytokines (MCP-1, IL-10, CXCL10) est sécrétée par les cellules infectées. Les chimiokines et les cytokines recrutent à leur tour les leucocytes et les lymphocytes au site de l'infection pour éliminer le virus de la circulation (Figure 11) (79).

C. Les polynucléaires neutrophiles

1. Généralités

Les polynucléaires neutrophiles (neutrophiles ou PNN) sont les premières cellules de l'immunité à atteindre le foyer de l'infection virale. Cependant, des travaux de recherche supplémentaires sont nécessaires afin d'explorer leur rôle dans la réponse antivirale (109). Les PNN sont des cellules de forme ronde dont la taille varie de 10 à 15 μm et qui possèdent un noyau polylobé (2 à 5 lobes). Ils représentent, à l'état physiologique chez l'adulte, 60 à 75% des leucocytes (1,8 à 6,9 G/L) (110). Ils constituent ainsi le plus grand contingent parmi les leucocytes sanguins. En dessous de 1700 neutrophiles/ mm^3 , le patient est en neutropénie. Elle peut être d'origine infectieuse (souvent virale), médicamenteuse, toxique, post-chimiothérapie,

congénitale ou immunitaire. Dans le cas inverse, une valeur anormalement élevée est appelée neutrophilie.

Elle est observée le plus souvent dans un contexte infectieux (le plus souvent bactérien), iatrogène (corticoïdes), dans les maladies inflammatoires dont les maladies auto-immunes (polyarthrite rhumatoïde) et certaines pathologies hématologiques (leucémies myéloïdes).

Lors de l'hématopoïèse, les PNN se différencient à partir du même précurseur précoce que les monocytes et les macrophages, les CFU-GEMM (lignée granuleuse érythrocytaire macrophage mégacaryocytaire), dans la moelle. Ils se différencient en CFU-GM avant de se différencier soit en monocytes-macrophages, soit en PNN. Tous migrent dans les tissus pour rejoindre les foyers inflammatoires. Cependant, le cycle de vie des PNN est plus court et ceux-ci meurent après avoir accompli la phagocytose et la lyse de leur cible (19).

2. Recrutement et fonctions

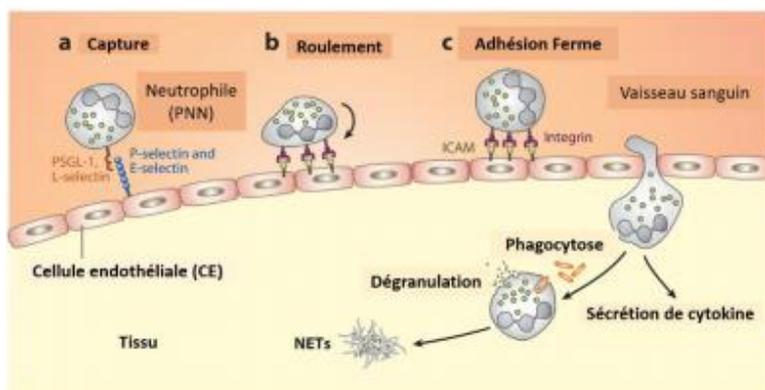


Figure 1 : Résumé du recrutement classique et des fonctions des PNN au sein d'un tissu inflammé/lésé. (a) les PNN sont capturés à la surface de l'endothélium suite à l'adhérence dépendante des sélectines ; (b) ils roulent tout en initiant (c) l'adhésion ferme dépendante des intégrines et passent à travers la monocouche endothéliale pour accéder au tissu afin de mettre en place leurs fonctions Amulic *et al.*³.

Comme la figure 12 le montre (111), le recrutement des PNN débute par l'adhésion faible dépendante des sélectines puis l'amorçage des PNN circulants dès que les

cellules endothéliales stimulées exposent à leur surface les sélectines E et P. Pour cela, un contact avec les ligands réceptifs constitutivement exprimés par les PNN, PSGL-1 (P-sélectine glycoprotéine ligand-1) et L-sélectine (CD62L) est établi. Il permet l'attache, la capture et le roulement des PNN à la surface de l'endothélium tout en induisant des cascades de signalisation. Ceci entraîne le regroupement, le changement de conformation et l'augmentation de l'expression de la sous-famille beta2 des intégrines (LFA1 (CD11a/CD18), Mac1 (CD11b/CD18) et CD11c/CD18) à la surface des PNN qui se lient aux ligands VCAM-1 ou ICAM-1 sur les cellules endothéliales pour l'arrêt ferme et le rampement des PNN. Ce processus est connu sous le nom d'adhérence dépendante des intégrines. Puis les PNN migrent à travers la monocouche endothéliale où on observe des discontinuités entre les protéines de jonctions cellulaires (VE-cadhérine et PECAM-1). Enfin, par chimiotactisme, ils sont dirigés vers le site inflammatoire en suivant le gradient de chimioattractants (C3b, C5a, IL-8, FMLP, LPS, leucotriène B4) qui interagissent avec les récepteurs à leur surface (CXCR1, CXCR2, Mac1, RfMLP) pour augmenter leur adhésion à l'endothélium, induire la synthèse des protéines nécessaires à l'activation de leurs fonctions et leur cytosquelette (112).

Les PNN remplissent le rôle de phagocytose quand, sur le lieu de l'inflammation, ils adhèrent directement par leurs récepteurs et indirectement par les opsonines au pathogène qui est endocyté et internalisé dans les PNN au sein du phagosome pour être éliminé. On distingue d'une part la phagocytose indépendante de l'oxygène qui est initiée lorsque le phagosome fusionne avec le lysosome formant le phagolysosome et/ou par le déversement dans le phagosome du contenu des granules primaires (élastase, lysozyme, défensines, myéloperoxydase (MPO), etc...), des granules secondaires (lactoferrine, collagénase...), des granules de type

gélatinase (gélatinases, beta2-microglobuline) et des vésicules sécrétoires (tétranectines).

D'autre part, la phagocytose en présence d'oxygène qui déclenche une explosion oxydative « burst » participant à la production des ROS (reactive oxygen species). Lors de la phagocytose, le système enzymatique NADPH oxydase, présent à la surface de la membrane plasmique de la cellule et du phagosome réduit le dioxygène (O_2) en anion superoxyde (O_2^-). Ensuite, l' O_2^- est transformé spontanément ou par la superoxyde dismutase en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence d'ions métalliques (Fe^{2+} , Cu^{2+}), l' O_2^- et le H_2O_2 peuvent également donner le radical hydroxyle (HO^\cdot). L' O_2^- , le H_2O_2 et le HO^\cdot sont très réactifs et capables d'oxyder les protéines, nucléotides et lipides pouvant déstabiliser l'intégrité de la cellule. Aussi, la MPO granulaire amplifie l'action antimicrobienne des PNN en convertissant l' H_2O_2 en hypochlorite (ClO^-), en chloramine (R-NHCL), et hypbromite (BrO^-). Néanmoins, si le système de détoxification de l'hôte est saturé (superoxyde dismutase, catalase, glutathion etc...), ce stress oxydatif peut endommager les tissus environnants et conduire à la mort du PNN (113). La dégranulation du contenu des différents granules dans le microenvironnement par les PNN permet aussi d'induire la production de ROS comme décrite ci-dessus.

En outre, par la nétose, les PNN forment des NETs (neutrophils extracellular traps) qui consistent au relargage des filaments de chromatine décondensés associés aux protéines granulaires (lysozyme, défensine, élastase etc) pouvant conduire à leur mort. En plus de ces fonctions, les PNN sont des sources de cytokines (MIP-1alpha, beta, IL-8, IL-12, TNFalpha). Grâce aux protéines granulaires (défensine et cathelicidine hCAP-18), ils peuvent aussi recruter d'autres cellules de l'immunité

(monocytes, PNN, CD, LT) (111) et favoriser la cicatrisation du tissu par la sécrétion de facteurs de croissance (114).

Les neutrophiles sont capables de suspendre l'activation des macrophages et les réponses réparatrices induites par les macrophages. Cette action est attribuée à l'inhibition du NF- κ B chez les macrophages et la suspension de la production de cytokines (115).

Enfin, les neutrophiles ont la capacité d'activer le recrutement des cellules dendritiques, de potentialiser leurs fonctions pour la présentation des antigènes et de favoriser l'induction de la réponse T spécifique (116).

IV. Elargissement au travail de mémoire : les PNN dans la COVID-19

Le travail de mémoire de DES qui est en cours porte sur l'analyse des polynucléaires neutrophiles à partir d'échantillons sanguins de patients COVID-19 confirmée par PCR, dans un état sévère. Cette analyse a pu être réalisée grâce à un cytomètre en flux.

Les divers travaux menés à ce jour ont mis en évidence une dérégulation du système immunitaire causant une hyper inflammation virale. Celle-ci a été étudiée chez 452 patients confirmés COVID-19 de Wuhan. Les résultats obtenus montrent une neutrophilie avec augmentation du ratio neutrophiles-lymphocytes (NLR), une augmentation des cytokines inflammatoires (IL-6 et TNF-alpha) ainsi qu'une diminution des monocytes, éosinophiles et basophiles (117,118). Une augmentation du NLR est prédictive d'un développement sévère de l'infection à SARS-CoV-2 à un stade précoce (19). Dans une autre étude concernant 41 patients COVID-19 positifs venant de Wuhan, il a été observé une neutrophilie chez les patients en soins intensifs plus fréquente que chez les patients qui ne sont pas en soins intensifs, ce qui pourrait être associé à la sévérité et la mortalité de la maladie (119). Par ailleurs, il a été démontré dans des cas de pneumonie à influenza compliquée par une infection bactérienne ou fongique, le nombre de PNN dans le tractus respiratoire inférieur était corrélé avec la sévérité clinique du patient (84).

La gravité de l'état de ces patients s'explique par la spirale d'inflammation nécrotique qui apparait. Le virus se lie aux récepteurs ACE-2 rentre dans les cellules

endothéliales et provoque la baisse d'expression d'ACE2, ce qui stimule le recrutement des neutrophiles. Les neutrophiles vont dégranuler et relarguer des fibres d'ADN extracellulaires constituées d'histones et de nucléoprotéines cytoplasmiques et des motifs moléculaires associés au danger (DAMP) qui activent les PRR situés sur les cellules immunes et non immunes productrices de cytokines. C'est l'infiltration continue de neutrophiles au site de l'infection qui va créer une production exagérée de cytokines et chimiokines conduisant possiblement à l'« orage cytokinique » et contribuant au syndrome de détresse respiratoire aigüe, au réponse inflammatoire sévère et au développement d'un sepsis durant la COVID-19 (19,120).

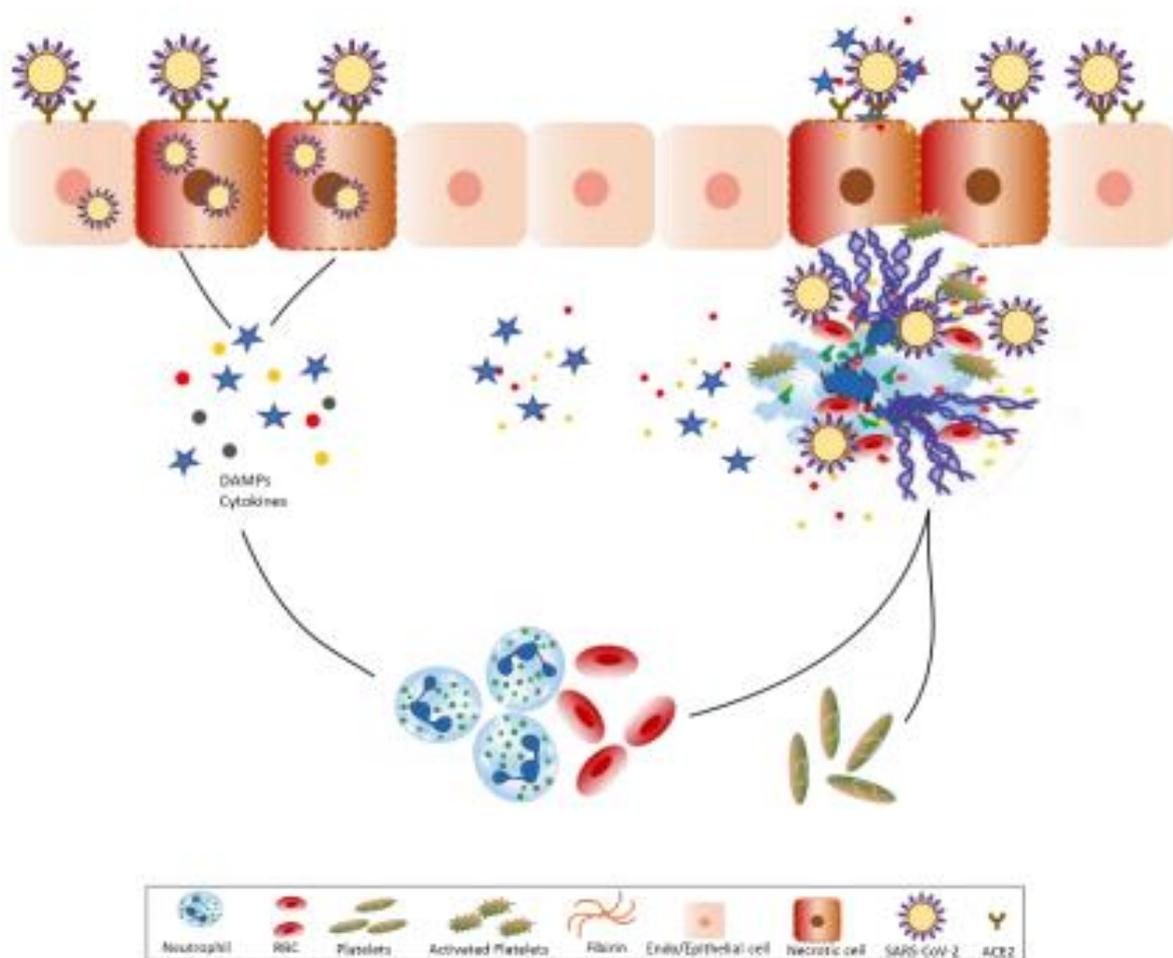


Figure 13 : les neutrophiles et la nétose conduisant   l'inflammation nécrotique dans la COVID-19 (19)

Les neutrophiles qui ont subi la nétose ont tendance à s'agréger pour former des thrombi dans les vaisseaux sanguins. L'ADN extracellulaire libéré par la nétose active les plaquettes qui, rejointes par les globules rouges, vont se servir de l'agrégat de PNN activés pour renforcer le thrombus et enclencher un cycle de formation et de propagation de thrombi. Les neutrophiles activés expriment aussi la properdine, le facteur B et la fraction C3 du complément ce qui suggère que les PNN jouent un rôle important dans l'activation du complément (19).

Ainsi, au-delà de la nétose, l'objectif de ce travail de DES est d'étudier différents paramètres importants dans le phénotype et la fonction des neutrophiles grâce à la cytométrie en flux. D'une part, des marqueurs de maturité (CD10, CD177), mais aussi des marqueurs fonctionnels comme les sélectines (CD62L), les intégrines (CD11b) et les récepteurs aux chimiokines (CXCR1 et CXCR2) qui jouent un rôle dans le recrutement des PNN. L'expression du CD16 et du CD32, des récepteurs aux opsonines, sera également étudiée. En parallèle, le dosage de chimiokines (IL-8, CXCL2), du contenu des granules (lactoferrine, myéloperoxydase, protéinase 3) et du GM-CSF sera effectué par technique Luminex. L'étude de la cinétique d'expression de ces paramètres dans les premiers jours de l'infection sera corrélée à la sévérité des symptômes et comparée à des volontaires sains.

Le tableau 2 ci-dessous nous permet de conclure que l'infiltration des PNN et la nétose conduisent ensemble à l'inflammation nécrotique durant les infections à coronavirus.

Virus	Marqueurs de l'activité des neutrophiles
SARS-CoV-2	<p>Niveau élevé de marqueurs de néotose, ADN cellulaire libre, myéloperoxydase et histone 3 citrulliné dans les sera des patients dans un état sévère</p> <p>Ratio neutrophiles-lymphocytes (NLR) augmenté causant des SDRA chez les patients</p> <p>Infiltration dans les capillaires pulmonaires de neutrophiles avec extravasation dans l'espace alvéolaire</p> <p>Ratio neutrophiles-lymphocytes (NLR) et D-dimères augmentés chez les patients</p>
SARS-CoV-1	<p>Recrutement des neutrophiles médiés par la fraction C3 du complément durant la progression de la maladie dans le modèle murin</p> <p>Infiltration pulmonaire des neutrophiles durant la phase terminale de l'infection dans le modèle murin</p> <p>Corrélation entre la quantité de neutrophiles et l'orage cytokinique chez les patients</p> <p>Haut niveau de neutrophiles producteurs d'IL-8 chez les patients</p> <p>La neutrophilie est associée à la sévérité de la maladie chez les patients</p>
MERS-CoV	<p>Réponse immunitaire innée médiée par les neutrophiles dans des souris greffées avec des récepteurs DPP4 humains</p> <p>Neutrophilie conduisant à une leucocytose: indicateur de la sévérité et de la mortalité de la maladie</p> <p>Libération accrue de ROS créant des lésions pulmonaires extensives et augmentant la sévérité de la maladie chez les ouistitis</p>

Tableau 2 : Preuves de l'inflammation nécrotique médiée par les neutrophiles dans les infections à coronavirus (19)

Conclusion

La pathologie de la COVID-19 liée à l'émergence du SARS-CoV-2 est un défi pour les systèmes de santé publique de tous les pays. Au moment de la rédaction de cette thèse, la pandémie est toujours en cours.

Pour mieux comprendre ce nouveau coronavirus, il est intéressant d'observer les similitudes avec le SARS-CoV-1 ou le MERS-CoV. D'un point de vue clinique, les trois virus adoptent le même comportement, ils déclenchent chez les patients une palette de symptômes allant de l'absence totale (asymptomatique) à une pneumonie sévère oxygène-requérante en passant par un banal rhume. Les bilans biologiques et radiologiques renvoient des données similaires à une pneumonie infectieuse accompagnée de défaillances d'organes.

Cependant, nous avons exposé le rôle fondamental de la réponse immunitaire sur l'évolution de la maladie. Une surproduction de cytokines, de chimiokines et d'interférons amènent à une situation physiologique insupportable d'où une dégradation de l'état clinique des patients. D'autre part, l'activation des neutrophiles et la libération des produits qui en découle font de la nétose un paramètre défavorable sur le plan immunitaire et hémostatique avec la formation de thrombus d'où l'inflammation nécrotique qui en résulte.

Enfin, le développement de vaccins et de thérapies innovantes telles que les anticorps monoclonaux constituent un espoir pour la population mondiale, sur le plan de la prévention et de la prise en charge des patients graves.

Bibliographie

1. Le SRAS-CoV, un coronavirus à l'origine d'une épidémie mondiale d'une ampleur considérable [Internet]. [cité 15 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-et-infections-respiratoires/infection-a-coronavirus/le-sras-cov-un-coronavirus-a-l-origine-d-une-epidemie-mondiale-d-une-ampleur-considerable>
2. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;5(4):536- 44.
3. Appellation de la maladie à coronavirus (COVID-19) et du virus qui la cause [Internet]. [cité 20 sept 2021]. Disponible sur: [https://www.who.int/fr/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/fr/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it)
4. Hosseini A, Hashemi V, Shomali N, Asghari F, Gharibi T, Akbari M, et al. Innate and adaptive immune responses against coronavirus. *Biomed Pharmacother.* déc 2020;132:110859.
5. Aspects immunologiques et virologiques de l'infection par le SARS-CoV-2 [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 15 sept 2021]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3221567/fr/aspects-immunologiques-et-virologiques-de-l-infection-par-le-sars-cov-2
6. Rabi FA, Al Zoubi MS, Kasasbeh GA, Salameh DM, Al-Nasser AD. SARS-CoV-2 and Coronavirus Disease 2019: What We Know So Far. *Pathogens.* 20 mars 2020;9(3):231.
7. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med.* 17 mars 2020;1- 3.
8. Tang F, Quan Y, Xin Z-T, Wrarmert J, Ma M-J, Lv H, et al. Lack of Peripheral Memory B Cell Responses in Recovered Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome: A Six-Year Follow-Up Study. *The Journal of Immunology.* 15 juin 2011;186(12):7264- 8.
9. Wen F, Yu H, Guo J, Li Y, Luo K, Huang S. Identification of the hyper-variable genomic hotspot for the novel coronavirus SARS-CoV-2. *J Infect.* juin 2020;80(6):671- 93.
10. IBM Docs [Internet]. 2021 [cité 14 juin 2021]. Disponible sur: <https://prod.ibmdocs-production-dal-6099123ce774e592a519d7c33db8265e-0000.us-south.containers.appdomain.cloud/docs/fr/spss-statistics/version-missing?topic=categories-categorical-principal-components-analysis-catpca>
11. Ceraolo C, Giorgi FM. Genomic variance of the 2019-nCoV coronavirus. *Journal of Medical Virology.* 2020;92(5):522- 8.
12. Mason RJ. Pathogenesis of COVID-19 from a cell biologic perspective. *Eur Respir J.* 9 avr 2020;2000607.
13. Qian Z, Travanty EA, Oko L, Edeen K, Berglund A, Wang J, et al. Innate Immune Response of Human Alveolar Type II Cells Infected with Severe Acute Respiratory Syndrome–Coronavirus. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 15 févr 2013;48(6):742- 8.

14. Prompetchara E, Ketloy C, Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol.* mars 2020;38(1):1- 9.
15. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA.* 7 avr 2020;323(13):1239- 42.
16. Tu Y-F, Chien C-S, Yarmishyn AA, Lin Y-Y, Luo Y-H, Lin Y-T, et al. A Review of SARS-CoV-2 and the Ongoing Clinical Trials. *International Journal of Molecular Sciences.* janv 2020;21(7):2657.
17. Hadisi Z, Walsh T, Dabiri SMH, Seyfoori A, Hamdi D, Mirani B, et al. Management of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic: From Diagnosis to Treatment Strategies. *Adv Ther (Weinh).* 16 déc 2020;2000173.
18. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA.* 9 juin 2020;323(22):2249- 51.
19. Tomar B, Anders H-J, Desai J, Mulay SR. Neutrophils and Neutrophil Extracellular Traps Drive Necroinflammation in COVID-19. *Cells.* 2 juin 2020;9(6):1383.
20. Dortet L, Emeraud C, Vauloup-Fellous C, Khecharem M, Ronat J-B, Fortineau N, et al. Rapid Determination of SARS-CoV-2 antibodies using a bedside, point-of-Care, serological test. *Emerging Microbes & Infections.* 1 janv 2020;9(1):2212- 21.
21. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell.* 18 févr 2021;184(4):861- 80.
22. Ng O-W, Chia A, Tan AT, Jadi RS, Leong HN, Bertoletti A, et al. Memory T cell responses targeting the SARS coronavirus persist up to 11 years post-infection. *Vaccine.* 12 avr 2016;34(17):2008- 14.
23. Demaret J, Lefèvre G, Vuotto F, Trauet J, Duhamel A, Labreuche J, et al. Severe SARS-CoV-2 patients develop a higher specific T-cell response. *Clin Transl Immunology.* 23 déc 2020;9(12):e1217.
24. Duan K, Liu B, Li C, Zhang H, Yu T, Qu J, et al. Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *PNAS.* 28 avr 2020;117(17):9490- 6.
25. Cheng Y, Wong R, Soo YOY, Wong WS, Lee CK, Ng MHL, et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1 janv 2005;24(1):44- 6.
26. Hung IF, To KK, Lee C-K, Lee K-L, Chan K, Yan W-W, et al. Convalescent Plasma Treatment Reduced Mortality in Patients With Severe Pandemic Influenza A (H1N1) 2009 Virus Infection. *Clinical Infectious Diseases.* 15 févr 2011;52(4):447- 56.
27. Ko J-H, Seok H, Cho SY, Eun Ha Y, Baek JY, Kim SH, et al. Challenges of convalescent plasma infusion therapy in Middle East respiratory coronavirus infection: a single centre experience. *Antivir Ther.* 2018;23(7):617- 22.
28. Shen C, Wang Z, Zhao F, Yang Y, Li J, Yuan J, et al. Treatment of 5 Critically Ill Patients With COVID-19 With Convalescent Plasma. *JAMA.* 28 avr 2020;323(16):1582- 9.

29. Uddin M, Mustafa F, Rizvi TA, Loney T, Al Suwaidi H, Al-Marzouqi AHH, et al. SARS-CoV-2/COVID-19: Viral Genomics, Epidemiology, Vaccines, and Therapeutic Interventions. *Viruses*. mai 2020;12(5):526.
30. Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med*. 1 avr 2020;46(4):586-90.
31. Monteil V, Kwon H, Prado P, Hagelkrüys A, Wimmer RA, Stahl M, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2. *Cell*. 14 mai 2020;181(4):905-913.e7.
32. de Wilde AH, Jochmans D, Posthuma CC, Zevenhoven-Dobbe JC, van Nieuwkoop S, Bestebroer TM, et al. Screening of an FDA-Approved Compound Library Identifies Four Small-Molecule Inhibitors of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Replication in Cell Culture. *Antimicrob Agents Chemother*. août 2014;58(8):4875-84.
33. Furuta Y, Komeno T, Nakamura T. Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*. 2017;93(7):449-63.
34. Smee DF, Tarbet EB, Furuta Y, Morrey JD, Barnard DL. Synergistic combinations of favipiravir and oseltamivir against wild-type pandemic and oseltamivir-resistant influenza A virus infections in mice. *Future Virology*. 1 nov 2013;8(11):1085-94.
35. Dowall SD, Bosworth A, Watson R, Bewley K, Taylor I, Rayner E, et al. Chloroquine inhibited Ebola virus replication in vitro but failed to protect against infection and disease in the in vivo guinea pig model. *J Gen Virol*. déc 2015;96(Pt 12):3484-92.
36. Sheahan TP, Sims AC, Graham RL, Menachery VD, Gralinski LE, Case JB, et al. Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Science Translational Medicine [Internet]*. 28 juin 2017 [cité 14 juin 2021];9(396). Disponible sur: <https://stm.sciencemag.org/content/9/396/eaal3653>
37. Zhang S, Li L, Shen A, Chen Y, Qi Z. Rational Use of Tocilizumab in the Treatment of Novel Coronavirus Pneumonia. *Clin Drug Investig*. 1 juin 2020;40(6):511-8.
38. Polyarthrite rhumatoïde : KEVZARA (sarilumab), nouvel inhibiteur des récepteurs d'IL6 [Internet]. VIDAL. [cité 16 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/actualites/22886-polyarthrite-rhumatoide-kevzara-sarilumab-nouvel-inhibiteur-des-recepteurs-d-il6.html>
39. Pascua PNQ, Lee J-H, Song M-S, Park S-J, Baek YH, Ann B-H, et al. Role of the p21-activated kinases (PAKs) in influenza A virus replication. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 28 oct 2011;414(3):569-74.
40. Van den Broeke C, Radu M, Chernoff J, Favoreel HW. An emerging role for p21-activated kinases (Paks) in viral infections. *Trends in Cell Biology*. 1 mars 2010;20(3):160-9.
41. Dexaméthasone : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 16 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/dexamethasone-1201.html>
42. Ivermectine : substance active à effet thérapeutique [Internet]. VIDAL. [cité 16 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.vidal.fr/medicaments/substances/ivermectine-4063.html>

43. Mon carnet de vaccination électronique, pour être mieux vacciné, sans défaut ni excès [Internet]. Mon carnet de vaccination électronique, pour être mieux vacciné, sans défaut ni excès. [cité 17 sept 2021]. Disponible sur: http://www.mesvaccins.net/web/vaccines?utf8=%E2%9C%93&name_or_disease=disease&search-by-name=&search-by-disease=57&commit=Chercher&search-by-age=&age_unit=ans
44. Monoclonal Antibodies vs COVID-19: [Internet]. [cité 17 sept 2021]. Disponible sur: <https://mediccreview.org/monoclonal-antibodies-vs-covid-19-eduardo-ojito/>
45. Clément P. Stratégie de vaccination contre la Covid-19. 2021;81.
46. Coronavirus : chiffres clés et évolution de la COVID-19 en France et dans le Monde [Internet]. [cité 16 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/dossiers/coronavirus-covid-19/coronavirus-chiffres-cles-et-evolution-de-la-covid-19-en-france-et-dans-le-monde>
47. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. [cité 16 sept 2021]. Disponible sur: <https://covid19.who.int>
48. Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) [Internet]. [cité 17 sept 2021]. Disponible sur: [https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov))
49. Mackay IM, Arden KE. MERS coronavirus: diagnostics, epidemiology and transmission. *Virology Journal*. 22 déc 2015;12(1):222.
50. Satija N, Lal SK. The Molecular Biology of SARS Coronavirus. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2007;1102(1):26- 38.
51. Wong SK, Li W, Moore MJ, Choe H, Farzan M. A 193-Amino Acid Fragment of the SARS Coronavirus S Protein Efficiently Binds Angiotensin-converting Enzyme 2. *J Biol Chem*. 30 janv 2004;279(5):3197- 201.
52. Liu X, Shi Y, Li P, Li L, Yi Y, Ma Q, et al. Profile of Antibodies to the Nucleocapsid Protein of the Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)-Associated Coronavirus in Probable SARS Patients. *Clin Diagn Lab Immunol*. janv 2004;11(1):227- 8.
53. Shi Y, Yi Y, Li P, Kuang T, Li L, Dong M, et al. Diagnosis of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) by Detection of SARS Coronavirus Nucleocapsid Antibodies in an Antigen-Capturing Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J Clin Microbiol*. déc 2003;41(12):5781- 2.
54. Wang J, Wen J, Li J, Yin J, Zhu Q, Wang H, et al. Assessment of Immunoreactive Synthetic Peptides from the Structural Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus. *Clin Chem*. déc 2003;49(12):1989- 96.
55. He Y, Zhou Y, Wu H, Kou Z, Liu S, Jiang S. Mapping of Antigenic Sites on the Nucleocapsid Protein of the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus. *J Clin Microbiol*. nov 2004;42(11):5309- 14.
56. Li S, Lin L, Wang H, Yin J, Ren Y, Zhao Z, et al. The Epitope Study on the SARS-CoV Nucleocapsid Protein. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. août 2003;1(3):198- 206.

57. Fang X, Ye L, Timani KA, Li S, Zen Y, Zhao M, et al. Peptide Domain Involved in the Interaction between Membrane Protein and Nucleocapsid Protein of SARS-associated Coronavirus. *BMB Reports*. 2005;38(4):381- 5.
58. Liao Y, Yuan Q, Torres J, Tam JP, Liu DX. Biochemical and functional characterization of the membrane association and membrane permeabilizing activity of the severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein. *Virology*. 5 juin 2006;349(2):264- 75.
59. Tan Y-J. The Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)-coronavirus 3a protein may function as a modulator of the trafficking properties of the spike protein. *Virol J*. 10 févr 2005;2:5.
60. Lu W, Zheng B-J, Xu K, Schwarz W, Du L, Wong CKL, et al. Severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus 3a protein forms an ion channel and modulates virus release. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 15 août 2006;103(33):12540- 5.
61. Tan Y-J, Tham P-Y, Chan DZL, Chou C-F, Shen S, Fielding BC, et al. The Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 3a Protein Up-Regulates Expression of Fibrinogen in Lung Epithelial Cells. *J Virol*. août 2005;79(15):10083- 7.
62. Tan Y-J, Fielding BC, Goh P-Y, Shen S, Tan THP, Lim SG, et al. Overexpression of 7a, a Protein Specifically Encoded by the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus, Induces Apoptosis via a Caspase-Dependent Pathway. *J Virol*. déc 2004;78(24):14043- 7.
63. Team:Athens/MersCov - 2018.igem.org [Internet]. [cité 17 sept 2021]. Disponible sur: <https://2018.igem.org/Team:Athens/MersCov>
64. Kim Y-J, Cho Y-J, Kim D-W, Yang J-S, Kim H, Park S, et al. Complete Genome Sequence of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus KOR/KNIH/002_05_2015, Isolated in South Korea. *Genome Announc*. 13 août 2015;3(4):e00787-15.
65. Durai P, Batool M, Shah M, Choi S. Middle East respiratory syndrome coronavirus: transmission, virology and therapeutic targeting to aid in outbreak control. *Exp Mol Med*. août 2015;47(8):e181.
66. Hu B, Zeng L-P, Yang X-L, Ge X-Y, Zhang W, Li B, et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLoS Pathog*. 30 nov 2017;13(11):e1006698.
67. Ramshaw RE, Letourneau ID, Hong AY, Hon J, Morgan JD, Osborne JCP, et al. A database of geopositioned Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus occurrences. *Scientific Data*. 13 déc 2019;6(1):318.
68. Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) [Internet]. [cité 17 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.who.int/westernpacific/health-topics/severe-acute-respiratory-syndrome>
69. MERS outbreak in the Asian Pacific Region [Internet]. EUROIMMUNBlog. 2015 [cité 19 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.euroimmunblog.com/mers-outbreak-in-the-asian-pacific-region/>
70. Ways in which humans may acquire MERS-CoV from camels [Internet]. figshare. figshare; 2015 [cité 19 sept 2021]. Disponible sur: https://figshare.com/articles/figure/Speculating_on_ways_to_acquire_MERS_CoV_from_camels/1290976/3

71. Bradley BT, Bryan A. Emerging respiratory infections: The infectious disease pathology of SARS, MERS, pandemic influenza, and Legionella. *Semin Diagn Pathol.* mai 2019;36(3):152- 9.
72. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(8):523- 34.
73. Coronavirus et syndrome respiratoire aigu sévère (COVID-19, MERS et SRAS) - Maladies infectieuses [Internet]. Édition professionnelle du Manuel MSD. [cité 17 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/virus-respiratoires/coronavirus-et-syndrome-respiratoire-aigu-s%C3%A9v%C3%A8re-covid-19-mers-et-sras>
74. Choe PG, Perera R a. PM, Park WB, Song K-H, Bang JH, Kim ES, et al. MERS-CoV Antibody Responses 1 Year after Symptom Onset, South Korea, 2015 - Volume 23, Number 7—July 2017 - *Emerging Infectious Diseases journal - CDC.* [cité 9 mai 2021]; Disponible sur: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/23/7/17-0310_article
75. Hozhabri H, Picci Sparascio F, Sohrabi H, Mousavifar L, Roy R, Scribano D, et al. The Global Emergency of Novel Coronavirus (SARS-CoV-2): An Update of the Current Status and Forecasting. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* janv 2020;17(16):5648.
76. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) [Internet]. [cité 12 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.who.int/westernpacific/health-topics/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-mers>
77. Song D, Ha G, Serhan W, Eltahir Y, Yusof M, Hashem F, et al. Development and Validation of a Rapid Immunochromatographic Assay for Detection of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Antigen in Dromedary Camels. *J Clin Microbiol.* avr 2015;53(4):1178- 82.
78. Hart BJ, Dyal J, Postnikova E, Zhou H, Kindrachuk J, Johnson RF, et al. Interferon- β and mycophenolic acid are potent inhibitors of Middle East respiratory syndrome coronavirus in cell-based assays. *J Gen Virol.* mars 2014;95(Pt 3):571- 7.
79. Mubarak A, Alturaiki W, Hemida MG. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV): Infection, Immunological Response, and Vaccine Development. *Journal of Immunology Research.* 7 avr 2019;2019:e6491738.
80. Mazaleuskaya L, Veltrop R, Ikpeze N, Martin-Garcia J, Navas-Martin S. Protective Role of Toll-like Receptor 3-Induced Type I Interferon in Murine Coronavirus Infection of Macrophages. *Viruses.* mai 2012;4(5):901- 23.
81. Fensterl V, Sen GC. Interferons and viral infections. *BioFactors.* janv 2009;35(1):14- 20.
82. Levy DE, Marié IJ, Durbin JE. Induction and function of type I and III interferon in response to viral infection. *Current Opinion in Virology.* déc 2011;1(6):476- 86.
83. Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, Corneau A, Boussier J, Smith N, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science.* 7 août 2020;369(6504):718- 24.
84. David Male, Jonathan Brostoff, Roth DB, Roitt I. *Immunologie.* (ELSEVIER).

85. Long Q-X, Liu B-Z, Deng H-J, Wu G-C, Deng K, Chen Y-K, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med.* juin 2020;26(6):845-8.
86. Rydzynski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A, Hastie KM, Weiskopf D, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell.* 12 nov 2020;183(4):996-1012.e19.
87. Premkumar L, Segovia-Chumbez B, Jadi R, Martinez DR, Raut R, Markmann A, et al. The receptor binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Sci Immunol.* 11 juin 2020;5(48):eabc8413.
88. Ripperger TJ, Uhrlaub JL, Watanabe M, Wong R, Castaneda Y, Pizzato HA, et al. Orthogonal SARS-CoV-2 Serological Assays Enable Surveillance of Low-Prevalence Communities and Reveal Durable Humoral Immunity. *Immunity.* 17 nov 2020;53(5):925-933.e4.
89. Suthar MS, Zimmerman MG, Kauffman RC, Mantus G, Linderman SL, Hudson WH, et al. Rapid Generation of Neutralizing Antibody Responses in COVID-19 Patients. *Cell Rep Med.* 8 juin 2020;1(3):100040.
90. Piccoli L, Park Y-J, Tortorici MA, Czudnochowski N, Walls AC, Beltramello M, et al. Mapping Neutralizing and Immunodominant Sites on the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain by Structure-Guided High-Resolution Serology. *Cell.* 12 nov 2020;183(4):1024-1042.e21.
91. Isho B, Abe KT, Zuo M, Jamal AJ, Rathod B, Wang JH, et al. Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. *Sci Immunol.* 8 oct 2020;5(52):eabe5511.
92. Brouwer PJM, Caniels TG, van der Straten K, Snitselaar JL, Aldon Y, Bangaru S, et al. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. *Science.* 7 août 2020;369(6504):643-50.
93. Robbiani DF, Gaebler C, Muecksch F, Lorenzi JCC, Wang Z, Cho A, et al. Convergent Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Convalescent Individuals. *Nature.* août 2020;584(7821):437-42.
94. Rogers TF, Zhao F, Huang D, Beutler N, Burns A, He W, et al. Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model. *Science.* 21 août 2020;369(6506):956-63.
95. Liu L, Wang P, Nair MS, Yu J, Rapp M, Wang Q, et al. Potent neutralizing antibodies against multiple epitopes on SARS-CoV-2 spike. *Nature.* août 2020;584(7821):450-6.
96. Gudbjartsson DF, Norddahl GL, Melsted P, Gunnarsdottir K, Holm H, Eythorsson E, et al. Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland. *N Engl J Med.* 1 sept 2020;NEJMoa2026116.
97. Wajnberg A, Amanat F, Firpo A, Altman DR, Bailey MJ, Mansour M, et al. Robust neutralizing antibodies to SARS-CoV-2 infection persist for months. *Science.* 4 déc 2020;370(6521):1227-30.
98. Gaebler C, Wang Z, Lorenzi JCC, Muecksch F, Finkin S, Tokuyama M, et al. Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. *Nature.* mars 2021;591(7851):639-44.

99. Anderson EM, Goodwin EC, Verma A, Arevalo CP, Bolton MJ, Weirick ME, et al. Seasonal human coronavirus antibodies are boosted upon SARS-CoV-2 infection but not associated with protection [Internet]. *Infectious Diseases (except HIV/AIDS)*; 2020 nov [cité 12 sept 2021]. Disponible sur: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.11.06.20227215>
100. Ng KW, Faulkner N, Cornish GH, Rosa A, Harvey R, Hussain S, et al. Preexisting and de novo humoral immunity to SARS-CoV-2 in humans. *Science*. 11 déc 2020;370(6522):1339- 43.
101. Nguyen-Contant P, Embong AK, Kanagaiah P, Chaves FA, Yang H, Branche AR, et al. S Protein-Reactive IgG and Memory B Cell Production after Human SARS-CoV-2 Infection Includes Broad Reactivity to the S2 Subunit. *mBio*. 11(5):e01991-20.
102. Shrock E, Fujimura E, Kula T, Timms RT, Lee I-H, Leng Y, et al. Viral epitope profiling of COVID-19 patients reveals cross-reactivity and correlates of severity. *Science*. 27 nov 2020;370(6520):eabd4250.
103. Song G, He W, Callaghan S, Anzanello F, Huang D, Ricketts J, et al. Cross-reactive serum and memory B-cell responses to spike protein in SARS-CoV-2 and endemic coronavirus infection. *Nat Commun*. 19 mai 2021;12:2938.
104. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 6 janv 2021;eabf4063.
105. Lu LL, Suscovich TJ, Fortune SM, Alter G. Beyond binding: antibody effector functions in infectious diseases. *Nat Rev Immunol*. janv 2018;18(1):46- 61.
106. Benhnia MR-E-I, McCausland MM, Moyron J, Laudenslager J, Granger S, Rickert S, et al. Vaccinia Virus Extracellular Enveloped Virion Neutralization In Vitro and Protection In Vivo Depend on Complement. *J Virol*. févr 2009;83(3):1201- 15.
107. Yu J, Tostanoski LH, Peter L, Mercado NB, McMahan K, Mahrokhian SH, et al. DNA vaccine protection against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Science*. 14 août 2020;369(6505):806- 11.
108. Sariol A, Perlman S. Lessons for COVID-19 Immunity from Other Coronavirus Infections. *Immunity*. 18 août 2020;53(2):248- 63.
109. Naumenko V, Turk M, Jenne CN, Kim S-J. Neutrophils in viral infection. *Cell Tissue Res*. 1 mars 2018;371(3):505- 16.
110. Troussard X, Vol S, Cornet E, Bardet V, Couaillac J-P, Fossat C, et al. Étude des valeurs normales de l'hémogramme chez l'adulte : un besoin pour une meilleure interprétation et pour l'accréditation du laboratoire. *Annales de Biologie Clinique*. 1 sept 2014;72(5):561 - 81.
111. Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, Metzler KD, Zychlinsky A. Neutrophil Function: From Mechanisms to Disease. *Annu Rev Immunol*. 23 avr 2012;30(1):459- 89.
112. Kolaczkowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*. mars 2013;13(3):159- 75.
113. Poret M, Tran T, Villotte M, Nüsse O. La myéloperoxydase : un fin stratège face à l'infection par un pathogène. *Med Sci (Paris)*. 1 août 2017;33(8- 9):741- 3.

114. Taïeb J, Delarche C, Paradis V, Mathurin P, Grenier A, Crestani B, et al. Polymorphonuclear neutrophils are a source of hepatocyte growth factor in patients with severe alcoholic hepatitis. *Journal of Hepatology*. 1 mars 2002;36(3):342- 8.
115. Marwick JA, Mills R, Kay O, Michail K, Stephen J, Rossi AG, et al. Neutrophils induce macrophage anti-inflammatory reprogramming by suppressing NF- κ B activation. *Cell Death Dis*. 4 juin 2018;9(6):665.
116. Krishnamoorthy N, Douada DN, Brüggemann TR, Ricklefs I, Duvall MG, Abdulnour R-EE, et al. Neutrophil cytoplasts induce Th17 differentiation and skew inflammation toward neutrophilia in severe asthma. *Sci Immunol*. 3 août 2018;3(26):eaao4747.
117. Lagunas-Rangel FA. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and lymphocyte-to-C-reactive protein ratio in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A meta-analysis. *Journal of Medical Virology*. 2020;92(10):1733- 4.
118. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*. 28 juill 2020;71(15):762- 8.
119. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*. 15 févr 2020;395(10223):497- 506.
120. Li T, Zhang Z, Li X, Dong G, Zhang M, Xu Z, et al. Neutrophil Extracellular Traps: Signaling Properties and Disease Relevance. *Mediators Inflamm*. 28 juill 2020;2020:9254087.

AUTEUR : Nom : THEOBALD

Prénom : Axel

Date de soutenance : 5 octobre 2021

Titre de la thèse : Rôle de l'immunité innée et des polynucléaires neutrophiles dans la COVID-19

Thèse - Médecine - Lille « 2021 »

Cadre de classement : Médecine

DES + spécialité : Biologie médicale

Mots-clés : COVID-19, SARS-CoV-2, SARS-CoV-1, MERS-CoV, réponse antivirale, immunité innée, polynucléaires neutrophiles

Résumé :

Introduction : Le virus du SARS-CoV-2 est responsable de la pandémie de la COVID-19 qui se poursuit à ce jour.

La pathologie COVID-19 : Au regard de la situation au 05/09/2021, la France compte 77,8% de sa population en âge de se vacciner avec un schéma vaccinal complet soit près de 48 millions de personnes. On observe que 8 personnes sur 10 admises en réanimation n'avaient reçu aucune dose de vaccin et la France fait partie des pays les plus endeuillés.

Les autres coronavirus hautement pathogènes (SARS-CoV-1 et MERS-CoV) : L'ensemble des travaux de recherche a permis très rapidement d'identifier et de classer ce nouveau virus parmi les coronavirus hautement pathogènes, aux côtés du SARS-CoV-1 et du MERS-CoV, tous les deux responsables d'épidémies en 2002 et 2012, respectivement. Si d'un point de vue clinique et radiologique, les trois virus orientent le clinicien vers une pneumonie à coronavirus, c'est bien la biologie qui permet un diagnostic de certitude grâce à l'apport de la biologie moléculaire (RT-PCR).

La réponse antivirale : La COVID-19 est une maladie qui, au-delà de l'aspect infectieux, est capable de produire une réaction immunitaire démesurée. En effet, la surproduction de cytokines, chimiokines et interférons amènent à une situation physiologique insupportable pour le patient d'où une dégradation de son état clinique.

L'implication des polynucléaires neutrophiles et objectif du mémoire : Les défaillances d'organes chez les patients en stade critique peuvent être expliquées par les polynucléaires neutrophiles qui vont créer un phénomène de nétose également responsable de la formation de thrombi et conduisant à des problèmes d'hémostase. Le travail qui va suivre s'intéresse à l'activation des neutrophiles dans cette réponse inflammatoire au SARS-CoV-2. Il sera l'occasion de conclure ce propos.

Composition du Jury :

Président : Madame le Professeur Myriam LABALETTE

Assesseurs : Madame le Docteur Fanny VUOTTO

Monsieur le Docteur Enagnon Kazali ALIDJINOU

Directeur de thèse : Madame le Docteur Julie DEMARET