

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 29 octobre 2021
Par Mr HIRABIDIAN Mickaël**

**REPONSE ANTIVIRALE AU COURS DE L'INFECTION PAR LE SARS-CoV-
2**

Membres du jury :

Président : Monsieur le Professeur BROUSSEAU Thierry, PU-PH,
Université de Lille, CHU Lille

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur ALIDJINOUE Enagnon Kazali, MCU-
PH, Université de Lille, CHU Lille

Assesseur(s) : Madame le Docteur BOCKET Laurence, PH, CHU Lille
Madame le Docteur DEMARET Julie, MCU-PH, Université
de Lille, CHU Lille
Monsieur le Docteur ROBINEAU Olivier, MCU-PH,
Université de Lille, CH Dron, Tourcoing



Faculté de Pharmacie de Lille



3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64

Université de Lille

Président :	Jean-Christophe CAMART
Premier Vice-président :	Nicolas POSTEL
Vice-présidente formation :	Lynne FRANJIÉ
Vice-président recherche :	Lionel MONTAGNE
Vice-président relations internationales :	François-Olivier SEYS
Vice-président stratégie et prospective	Régis BORDET
Vice-présidente ressources	Georgette DAL
Directeur Général des Services :	Pierre-Marie ROBERT
Directrice Générale des Services Adjointe :	Marie-Dominique SAVINA

Faculté de Pharmacie

Doyen :	Bertrand DÉCAUDIN
Vice-doyen et Assesseur à la recherche :	Patricia MELNYK
Assesseur aux relations internationales :	Philippe CHAVATTE
Assesseur aux relations avec le monde professionnel :	Thomas MORGENROTH
Assesseur à la vie de la Faculté :	Claire PINÇON
Assesseur à la pédagogie :	Benjamin BERTIN
Responsable des Services :	Cyrille PORTA
Représentant étudiant :	Victoire LONG

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	DEPREUX	Patrick	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie

Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences Végétales et Fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences Végétales et Fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique et application de RMN
Mme	DEPREZ	Rebecca	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DEPREZ	Benoît	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences Végétales et Fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie industrielle
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique

M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Éric	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle
M.	WILLAND	Nicolas	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants

Liste des Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie

Liste des Maîtres de Conférences

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique

Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie
M.	BOSC	Damien	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale
Mme	CHARTON	Julie	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL

M.	FLIPO	Marion	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique
Mme	LEHMANN	Hélène	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert LESPAGNOL
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences Végétales et Fongiques
M.	MORGENROTH	Thomas	Législation et Déontologie pharmaceutique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques

M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique
M.	POURCET	Benoît	Biochimie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / service innovation pédagogique
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	WELTI	Stéphane	Sciences Végétales et Fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques

Professeurs Certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
M.	DHANANI	Alban	Législation et Déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	GILLOT	François	Législation et Déontologie pharmaceutique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

ATER

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	GHARBI	Zied	Biomathématiques
Mme	FLÉAU	Charlotte	Médicaments et molécules pour agir sur les systèmes vivants
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale
M.	RUEZ	Richard	Hématologie
M.	SAIED	Tarak	Biophysique et Laboratoire d'application de RMN
Mme	VAN MAELE	Laurye	Immunologie

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Laboratoire
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie Galénique et Hospitalière

Faculté de Pharmacie de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Remerciements :

A Monsieur le Professeur BROUSSEAU Thierry

*Professeur des Universités – Praticien Hospitalier
Laboratoire de Biochimie
Centre Hospitalier Universitaire de Lille*

Vous me faites l'honneur d'avoir accepté de présider ce jury de thèse. Je vous remercie de l'intérêt que vous avez porté à ce travail. Soyez assuré de ma plus haute considération.

A Madame le Docteur BOCKET Laurence

*Praticien Hospitalier
Laboratoire de Virologie
Centre Hospitalier Universitaire de Lille*

Vous me faites l'honneur de juger ce travail de thèse. Je vous remercie de l'intérêt que vous avez exprimé pour ce sujet. Ce fut également un plaisir de travailler à vos côtés lors de cette période si particulière. Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A Madame le Docteur DEMARET JULIE

*Maître de conférences des Universités – Praticien Hospitalier
Laboratoire d'Immunologie
Centre Hospitalier Universitaire de Lille*

Vous me faites l'honneur d'avoir accepté d'évaluer cette thèse et je vous en remercie. Veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de ma reconnaissance.

A Monsieur le Docteur ROBINEAU Olivier

*Maître de conférences des Universités – Praticien Hospitalier
Service Universitaire des Maladies Infectieuses et du Voyageur
Centre Hospitalier de Dron, Tourcoing*

Vous me faites l'honneur de vous intéresser à ce travail et d'accepter de le juger. Je vous exprime ma plus sincère considération et vous prie d'accepter mes remerciements les plus sincères.

A Monsieur le Docteur ALIDJINOU Enagnon Kazali

*Maître de conférences des Universités – Praticien Hospitalier
Laboratoire de Virologie
Centre Hospitalier Universitaire de Lille*

Je voudrais à travers ces mots te témoigner ma reconnaissance pour tout le temps investi dans ce travail. Je te remercie pour tes conseils, ton écoute et ta disponibilité. Je tiens également à te remercier pour ta rigueur et ton exigence qui me serviront de modèle dans ma carrière de biologiste médical. Merci de ta confiance et de ton excellent encadrement. Soit assuré de ma gratitude et de mon plus profond respect.

Au travers de cette thèse je voudrais remercier,

Tous les techniciens du laboratoire d'Arras, pour m'avoir accueilli avec la chaleur du Nord. Aux biologistes du CH d'Arras, que j'apprécie aussi bien professionnellement qu'humainement. Mention spéciale à Maha et Benoît, merci pour votre gentillesse et de m'avoir donné le goût de la microbiologie.

Les biologistes et techniciens de virologie, à toute l'équipe de techniciens COVID, qui ont été présents lors de mon passage. Merci pour votre travail, votre aide et votre patience lors de ces moments compliqués !

Les biologistes et techniciens du CH de Roubaix, pour votre bonne humeur, ces nombreux fous-rires, pour votre professionnalisme à toute épreuve. Merci de m'avoir accueilli en espérant revivre des moments ensemble.

Les biologistes et à l'équipe technique du CH de Valenciennes, pour m'avoir accueilli et beaucoup appris sur la bactériologie. Je vous remercie pour votre bienveillance et votre travail au sein de cet excellent laboratoire.

Je souhaiterais également remercier,

A toutes les personnes que j'ai pu rencontrer lors de l'internat, Adrien, Zoé, David, Amélie, Marie-Amélie, Benjamin, Clément, Quentin, Léa, Mélanie, Geoffrey, Les Pauline(s), Mathieu, Alexandre, Khalil, Chloë, Lulu, Claire, Malo, et Youssef... A Farouk pour tous ces fous-rires !

Céline, merci pour ces belles années passées à tes côtés. Je te souhaite tout le bonheur pour le futur, car tu le mérites. Tous les beaux souvenirs, les voyages et expériences que l'on a vécus ensemble resteront en ma mémoire.

Camille, Amandine, Sylvain, Mona. Pour ces belles soirées d'internat, cette amitié que l'on s'est construit lors de ce stage. Je suis très heureux de vous avoir. A bientôt pour les tennis frites et... au DD.

Arthur, pour ces 27 belles années d'amitiés. On a grandi ensemble, tu ne pouvais qu'être mentionné dans ma thèse ! A Patrick, Nadia, Seb, connaissances et ami de longues dates !

Laureen et Baptiste, pour votre gentillesse et pour m'avoir toujours accueilli les bras ouverts. Pour toutes ces soirées à rire, à discuter et à jouer aux jeux vidéo. Merci beaucoup !

Fidji, pour ces soirées à discuter lors de ce semestre d'internat où l'on s'est connu, en espérant beaucoup d'autres ! Merci à Toufik, Amélie, Kelly, Martin, Agathe, pour ce semestre à l'internat avec les soirées thés, jeux, films. En espérant de belles soirées avec vous !

Flora, Kelly avec ce superbe stage en neurochimie parsemé de protéines amyloïdes, de pauses café et de préanalytique ! On aura bien rigolé ! Merci pour vos conseils et « La Thèse, c'est la vie »

« Mes » FFI de cœur et futur PU-PH en devenir, Ilyes et Mahdi, j'ai grandement apprécié de travailler avec vous pendant cette période COVID. Vous serez toujours mes poulains !

Claire, ma cheffe préférée, qui a su être d'un courage et d'une grande force lors de cette crise COVID ! A cheffe Pauline pour ta bonne humeur et ta joie de vivre qui me rendront toujours de bonne humeur. A cheffe Laurine pour tes conseils et encouragements au cours de cette thèse ! A (bientôt) chef Camille pour ta passion et ta gentillesse au quotidien.

Tous mes amigos : Ambroise, Ryane, Mael, Clara, Axel, Alex, Quentin, Thibaut, Gatien, Alice, Caroline, Anna. Quelle belle promo pleine d'amigosité. Je suis fier d'avoir pu vivre mon internat avec vous. C'est rare d'avoir une telle complicité entre interne, vous êtes tous géniaux. Merci beaucoup d'être comme vous êtes. J'espère que l'amigosité perdurera dans le futur, lorsque l'on sera dans la cour des grands !

Ysaline et Thomas : A mes amis de longues dates ! Des années lycées jusqu'à ce jour, merci pour m'avoir supporté pendant tant d'années, pour cette amitié de toute une vie. Merci d'avoir toujours été présent pour moi, de vos rires, de vos blagues nulles mais que l'on aime. Je mesure pleinement la chance de vous avoir. Merci pour tout.

Gulseren : Le début fut difficile, mais nous sommes désormais inséparables. Je voudrais te remercier, pour tout le soutien et les mots que tu as su m'apporter. Pour tous tes conseils avisés, pour ces merveilleuses et passionnantes discussions et de ton indéfectible amitié. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi.

La Clique : Ali, Nassim, Maxence, Maxime. A mes bébés, si j'ai eu la chance de vivre de belles années de faculté, c'est grâce à vous. A toutes ces soirées, FIFA entre autres, ces magnifiques voyages, ces nombreux cours et épreuves partagées, les chambrages, les grands débats qui resteront gravés. Merci de croire en moi et de me rendre meilleur chaque jour. Vous êtes des piliers, et ce pour encore de nombreuses années. Je sais que je peux compter sur vous en toutes circonstances, et c'est bien là, le plus important.

A ma famille,

Toute la famille Hirabidian, Elise, Nerses, Seta et à mes cousins. A tante Marie dont je n'oublie pas son caractère mais aussi sa grande empathie et gentillesse en mon égard. A toute la famille Poncelin de Raucourt. Mention spéciale à Mamée, qui s'est bien occupée de moi durant ma jeunesse. Mon parrain Dominique, qui est une source d'inspiration, et à mes cousines Sonia et Mathilde que j'adore. Depuis tout petit je vous embête, et je continuerais. En espérant avoir plus de possibilité de se voir à l'avenir !

Mes grands-parents, Manik, Loucine et Bernard, dont j'aurais aimé la présence, mais qui seront avec moi lors de cette présentation. Aux nouveaux venu, Charles et Margaux, sur qui je veillerais à leur bonheur.

A ma sœur,

On a toujours été très complice. J'ai de la chance de t'avoir. Je sais qu'on sera toujours présent l'un pour l'autre. Je suis fier de toi, de ce que tu es et de ce que tu as pu accomplir. Tu as toujours été mon guide qui me permet d'avancer dans la vie, d'être meilleur. Tu es une grande sœur extraordinaire. Je n'aurais pu demander mieux, on a eu la chance d'avoir une belle famille unie. Merci ma sœur, ce travail est aussi le tiens.

A mon père et à ma mère,

Je suis parti de loin, mais j'ai travaillé dur afin d'avoir un métier que j'aime et de faire votre fierté. Je suis également très fier d'avoir des parents comme vous, je ne peux qu'être reconnaissant de ce cadeau. Pour m'avoir accompagné toute ma vie et fait de moi l'homme épanoui que je suis aujourd'hui. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi, que ce soit dans le passé, le présent et le futur. Ce travail n'existerait pas sans vous. Je vous aime.

Table des matières

REMERCIEMENTS :	10
TABLE DES MATIERES	14
LISTE DES FIGURES	17
LISTE DES ABREVIATIONS	19
INTRODUCTION	23
GENERALITES SUR LE SARS-COV-2	24
HISTORIQUE	24
TAXONOMIE ET CLASSIFICATION	25
ORIGINE ZOONOTIQUE DU SARS-CoV-2	27
EPIDEMIOLOGIE	28
PREVALENCE AU NIVEAU MONDIAL	28
PREVALENCE EN FRANCE	28
FACTEURS DE RISQUE	28
TRANSMISSION	29
Mode de transmission	29
Période de transmission	30
STRUCTURE ET GENOME DU SARS-CoV-2	30
STRUCTURE DU VIRUS	30
GENOME	31
PROTEINES STRUCTURALES	32
VARIABILITE GENETIQUE	33
CYCLE VIRAL	36
ATTACHEMENT ET ENTREE DU VIRION	36
REPLICATION VIRALE	36
ASSEMBLAGE DU VIRUS ET LIBERATION	37
MANIFESTATIONS CLINIQUES	38
INFECTIONS ASYMPTOMATIQUES	38

INFECTIONS SYMPTOMATIQUES	39
Infection symptomatique légère à modérée	39
Infection sévère	39
DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DU SARS-CoV-2	40
TEST D'AMPLIFICATION DES ACIDES NUCLEIQUES (TAAN)	40
Modalités de prélèvement	40
Cibles amplifiées et méthodes	41
TAAN ALTERNATIVES À LA RT-PCR	44
Test RT-LAMP	44
Test TMA	44
TESTS ANTIGENIQUES	44
<u>REPONSE DU SYSTEME IMMUNITAIRE CONTRE LE SARS-COV-2</u>	45
IMMUNITE INNEE	45
GENERALITES SUR LA REPONSE DE L'IMMUNITE INNEE	45
Le scénario général	45
Mécanismes de la reconnaissance par les senseurs de l'immunité innée	45
Conséquences de la réponse de l'immunité innée	46
INTERFERONS DE TYPE I ET III	47
Production et activité	47
DONNEES SUR LES INTERFERONS DE TYPE III AU COURS DE L'INFECTION PAR LE SARS-CoV-2	50
CYTOKINES ET CHIMIOKINES	50
Production et activité	50
Données sur les cytokines chez les patients COVID-19	51
LE SYSTEME COMPLEMENT	52
SARS-CoV-2 et cascade du complément	52
ACTEURS CELLULAIRES	55
Monocytes/Macrophages	56
Cellules dendritiques	56
Lymphocytes Natural Killer (LNK)	56
Polynucléaires neutrophiles (PNN)	57
REPONSE IMMUNITAIRE ADAPTATIVE VIS-A-VIS DU SARS-CoV-2	61
IMMUNITE A MEDIATION CELLULAIRE	61
Mécanismes de l'immunité à médiation cellulaire	61

Données d'immunité cellulaire chez les patients infectés par le SARS-CoV-2	62
IMMUNITE HUMORALE	65
Initiation de la réponse immunitaire humorale	65
Cinétique et caractéristiques des anticorps	66
Mémoire immunitaire	69
<u>METHODES D'EVALUATION DE LA REPONSE ANTIVIRALE</u>	69
RECHERCHE D'ANTICORPS ANTI-SARS-CoV-2	69
CIBLES ANTIGENIQUES	70
APPROCHES TECHNIQUES	71
Les tests ELISA et CLIA	71
Les tests sérologiques rapides	73
RECHERCHE DES ANTICORPS NEUTRALISANTS	74
TEST DE NEUTRALISATION VIRALE	74
TEST DE NEUTRALISATION PAR PSEUDOVIRUS	75
TEST DE NEUTRALISATION PAR TECHNIQUE ELISA	76
ELISPOT	77
ETUDE DE L'ACTIVATION DES LT EN CYTOMETRIE DE FLUX	78
<u>OUVERTURE VERS LA RECHERCHE CLINICO-BIOLOGIQUE</u>	79
<u>CONCLUSION</u>	80
<u>ANNEXES</u>	81
<u>RÉFÉRENCES</u>	82

Liste des figures

Figure 1 : Frise chronologique de la découverte des coronavirus humains	25
Figure 2 : Organisation en genres de la sous-famille des Orthocoronavirinae (15) ..	26
Figure 3 : Structure du syndrome respiratoire aigu sévère – Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) (25).....	31
Figure 4 : Représentation complète du génome du SARS-CoV-2 ainsi que les ARN subgénomiques synthétisés (25)	32
Figure 5 : Cycle cellulaire des coronavirus humains (40)	38
Figure 6 : Détection de l'ARN du SARS-CoV-2 dans le prélèvement nasopharyngé (48)	41
Figure 7 : Etape du diagnostic du SARS-CoV-2 par technique de RT-PCR (52).....	42
Figure 8 : Reconnaissance et cascade d'activation lors de la reconnaissance du SARS-CoV-2 (60)	46
Figure 9 : Impact de la réponse interféron ou du traitement interféron au cours de la COVID-19 (65).....	49
Figure 10 : Mécanisme immunopathologique d'une réponse tardive et importante de synthèse d'interféron concernant les malades graves atteints de COVID-19 (61)....	49
Figure 11 : Cytokines et chimiokines produites au cours de l'infection par le SARS-CoV-2 (60).....	52
Figure 12 : Voies d'activations du système complément (75).....	53
Figure 13 : Boucle d'inflammation médiée par l'activation exacerbée du complément par le SARS-CoV-2 (75)	55
Figure 14 : Représentation de la réponse immunitaire innée dans une alvéole pulmonaire (60)	58
Figure 15 : Cinétique de la charge virale, des réponses immunitaires innées et adaptatives dans le cadre d'une infection normale (A), modérée (B) et sévère (C) à SARS-CoV-2 (84).....	63
Figure 16 : Cinétique de la réponse immunitaire cellulaire et humorale contre le COVID-19 (104).....	68
Figure 17 : Schéma des techniques ELISA et TDR dans le cadre d'infection à SARS-CoV-2 (120).....	74
Figure 18 : Schéma explicatif de la réalisation du test de neutralisation par utilisation de pseudovirus	76
Figure 19 : Comparaison des tests de neutralisation par une technique gold standard (à gauche) et par technique ELISA (à droite) (123).....	77
Figure 20 : Etape de réalisation du test T-SPOT COVID.....	78

Liste des tableaux

Tableau 1 : Facteurs de risques identifiés comme à risque d'hospitalisation et/ou de décès au cours de la COVID-19 (19).....	29
Tableau 2 : Classement des variants du SARS-CoV-2 en fonction des critères établis par Santé Publique France (36).....	35
Tableau 3 : Détection, mutations et caractéristiques des VOC (37–39)	35
Tableau 4 : Méthodes de RT-PCR utilisées en routine pour le diagnostic du SARS-CoV-2 (52).....	43
Tableau 5 : Mécanismes d'évasion immunitaire utilisée par le SARS-CoV-2. Les textes indiqués en gras sont les mécanismes d'actions qui n'ont pas encore été prouvé sur le SARS-CoV-2 (65)	60
Tableau 6 : Résumé des caractéristiques phénotypiques, variations et commentaires des lymphocytes circulants dosés dans le COVID-19 sévère (85,88)	64
Tableau 7 : Paramètres et performances des principaux tests sérologiques qualitatifs utilisés dans le cadre de l'infection à SARS-CoV-2	72

Liste des abréviations

ACE2 :	Enzyme de conversion à l'angiotensine II
ADE :	Antibody-dependant enhancement
ADN :	Acide désoxyribonucléique
AF :	Anticorps facilitant
AN :	Anticorps neutralisant
ARN :	Acide ribonucléique
BCR :	B-cell receptor
BPCO :	Bronchopneumopathie chronique obstructive
CAM :	Complexe d'attaque membranaire
CCL :	Chemokines ligand
CDC :	Centers for Disease Control and Prevention
CIVD :	Coagulation intravasculaire disséminée
CLIA :	Chemiluminescent immunoassay
CNR :	Centres nationaux de référence
COVID-19 :	Coronavirus disease 2019
CPA :	Cellule présentatrice d'antigène
Cpm :	Cycle par minute
CTL :	Lymphocytes T cytotoxiques
CTLA-4 :	Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
CXCL :	Chemokine ligand
HLA-DR :	Human Leukocyte Antigen – DR isotype
DC :	Cellules dendritiques
ECMO :	Extracorporeal membrane oxygenation
EHPAD :	Etablissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes
ELISA :	Enzyme-linked immunosorbent assay
G-CSF :	Granulocyte colony Stimulating Factor
GISAID :	Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data
GM-CSF :	Granulocyte macrophage colony stimulating factor
HAS :	Haute autorité de santé

HCoV-229E : Human coronavirus 229E
HCoV-HKU1 : Human coronavirus HKU1
HCoV-NL63 : Human coronavirus NL63
HCoV-OC43 : Human coronavirus OC43
HR : Heptad repeat
ICTV : International Committee on Taxonomy of Viruses
IFN : Interférons
IFNAR : Interferon- α/β receptor
IgA : Immunoglobulines A
IgG : Immunoglobulines G
IgM : Immunoglobulines M
IL : Interleukines
IMC : Indice de masse corporel
IRF : Interferon regulatory factor
ISG : Interferon-stimulated gene
KIR : Killer cell Ig-like receptor
LB : Lymphocytes B
LBA : Liquide broncho-alvéolaire
LNK : Lymphocytes natural killer
LT : Lymphocytes T
LTCD4 : Lymphocytes T CD4
MDA5 : Melanoma differentiation associated protein 5
MERS-CoV : Middle East respiratory syndrome related coronavirus
Mpro : Main proteinase
MVAS : Mitochondrial antiviral signaling protein
MyD88 : Myeloid differentiation primary response 88
NETs : Neutrophil extracellular traps
NKG2A : CD94/NK group 2 member A
NLR : Nod-like receptor
Nsp : Non structural protein
NTD : N-terminal domain

OMS : Organisation mondiale de la santé

ORF : Open reading frame

ORL : Otorhinolaryngologie

PAMPs : Pathogen Associated Molecular Patterns

PBMC : Peripheral blood mononuclear cell

pDC : Cellule dendritique plasmacytoïde

PDGF : Platelet-Derived Growth Factor

PDL : Programmed death ligand

PLpro : Protéase de type papaïne

PNN : Polynucléaire neutrophile

Protéine E : Protéine d'enveloppe

Protéine M : Protéine de membrane

Protéine N : Protéine de nucléocapside

Protéine S : Protéine de surface

PRR : Pattern recognition receptor

RBD : Receptor binding domain

RdRp : ARN polymérase ARN-dépendante

RIG-I : Retinoic acid-inducible gene I

RLR : RIG-I-like receptors

RTC : Complexe replicase-transcriptase

RT-LAMP : Reverse Transcription Loop mediated Isothermal Amplification

RT-PCR : Reverse transcription polymerase chain reaction

SARS-CoV : Severe acute respiratory syndrome coronavirus

SARS-CoV-2 : Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

SDRA : Syndrome de détresse respiratoire aiguë

STAT : Signal transducer and activator of transcription

TAAN : Tests d'amplification des acides nucléiques

TCA : Temps de céphaline activée

TIGIT : T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains

TIM-3+ : T-cell immunoglobulin and mucin containing protein-3

TIR : Toll/interleukin-1 receptor

TLR : Toll like receptor
TMA : Transcription mediated amplification
TMPRSS2 : Transmembrane protease serine 2
TNF : Tumor necrosis factor
TP : Temps de prothrombine
VOC : Variants of concern
VOI : Variants of interest

Introduction

Depuis le mois de Décembre 2019, le monde a été témoin de l'émergence de la plus grande pandémie de ce 21^{ème} siècle, causée par un coronavirus nommé Severe Acute Respiratory Syndrome – Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). En octobre 2021, cette pandémie, qui est encore en cours, a causé 237 millions d'infections pour un total de 4.8 millions de morts dans le monde (1). La dissémination rapide et brutale de ce virus a provoqué une crise sanitaire sans précédent, mais a eu également des conséquences majeures sur le plan politique, économique et sociétal. Le contrôle de cette dissémination a en effet nécessité la mise en place d'une part d'habitudes nouvelles comme le port du masque, le respect des gestes barrières, ainsi que des mesures restrictives d'urgence, marquées par des épisodes de confinement et de couvre-feu...

La mobilisation politique, médicale et scientifique a permis de rechercher des solutions en temps réel. Une meilleure compréhension de la physiopathologie de la maladie a permis d'améliorer la prise en charge thérapeutique. Mais au-delà de tout, c'est la mise à disposition rapide de vaccins qui aura sans aucun doute constitué la lueur d'espoir qui permet d'envisager la sortie de cette pandémie. La vaccination permet de mimer partiellement la réponse du système immunitaire et permettre la protection d'une future infection grave et mortelle.

Les modalités de la réponse du système immunitaire au cours de l'infection naturelle déterminent en effet pour une grande part l'issue de la maladie. La réponse vis-à-vis du SARS-CoV-2 est complexe et fait intervenir de nombreux mécanismes, de nombreuses cellules et de nombreux médiateurs solubles depuis la réponse innée, non spécifique, jusqu'à la réponse adaptative, plus orientée contre le SARS-CoV-2. Si le but initial de cette réponse est de lutter contre l'infection, elle peut parfois dériver vers des mécanismes immunopathologiques, préjudiciables à l'hôte.

Il est proposé dans ce travail, une revue actualisée des connaissances accumulées dans la littérature sur la réponse immunitaire vis-à-vis du SARS-CoV-2, en montrant les liens avec la maladie. De même, nous décrirons les méthodes d'évaluation de cette réponse immunitaire qui permettent de disposer parfois de marqueurs diagnostiques et pronostiques.

Généralités sur le SARS-CoV-2

Historique

Les coronavirus sont des agents pathogènes pouvant provoquer des infections aussi bien chez l'homme que chez d'autres espèces animales. Les premiers virus découverts dans cette famille sont d'ailleurs des virus animaux : le virus de la bronchite infectieuse du poulet (avian coronavirus) en 1931 ; le virus de la gastro-entérite aiguë du porc (Transmissible gastroenteritis virus ou alphacoronavirus 1) en 1937 et le virus d'hépatite de la souris (murine hepatitis virus ou murine coronavirus) en 1949 (2).

Des cultures cellulaires de sécrétions respiratoires ont permis d'identifier les premiers coronavirus humains à partir des années 60, avec notamment la caractérisation de deux espèces qui sont actuellement nommées : Human coronavirus 229E et Human coronavirus OC43 (3,4). Pendant près de 40 ans, les coronavirus ont suscité peu d'intérêt dans le domaine médical, car ils étaient considérés à l'origine comme des infections bénignes du tractus respiratoire supérieur.

En novembre 2002, dans la province du Guangdong en Chine, des cas de pneumonie atypique émergent. Ces tableaux cliniques se propagent initialement dans quatre territoires : Hong Kong, Canada, Toronto, Singapour et le Vietnam. Puis, au fil des semaines, 25 pays du monde seront touchés (5). En mars 2003, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) nomme cette maladie « syndrome respiratoire aigu sévère » (SRAS) avec comme agent pathogène, un nouveau coronavirus nommé SARS-CoV (6). Ce virus a pour caractéristique un tropisme pour les voies respiratoires basses. Ce tropisme, contrairement aux coronavirus connus jusqu'alors, provoquait entre autres un tableau clinique d'insuffisance respiratoire sévère, nécessitant une prise en charge dans les services de soins intensifs. Cette pandémie a affecté environ 8000 malades dont 774 décès (5,6).

L'émergence du SARS-CoV, la sévérité de la maladie ainsi que sa dissémination dans le monde ont permis un regain d'intérêt de la part des chercheurs et des pouvoirs publics pour l'étude des coronavirus. En 2004-2005, deux coronavirus, NL63 et HKU1 sont découverts. NL63 a été isolé chez une patiente de 7 mois

souffrant d'une bronchiolite (7). HKU1, quant à lui, est isolé d'un patient de 71 ans atteint de pneumonie et revenant d'un voyage en Chine (8).

En avril 2012, un patient de 60 ans originaire de Jeddah, en Arabie Saoudite, est décédé dans un contexte de détresse respiratoire aiguë et de syndrome de défaillance multiviscérale (9). Des cas similaires se développent dans des pays du Moyen Orient, tels que l'Arabie Saoudite, la Jordanie, le Qatar, Oman, le Koweït et les Emirats Arabes Unis. La localisation géographique a conduit à donner à ce virus le nom de MERS-CoV pour Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. Ce virus a une transmission interhumaine faible, mais se distingue par sa forte mortalité, avec 1219 cas dont 449 morts depuis 2012 (10). Seulement deux cas ont été identifiés en France, à Lille, dont un cas importé et un cas nosocomial (11).

Le 31 décembre 2019, un cluster de patients avec une pneumonie de cause inconnue a été rapporté. Ces patients ont fréquenté d'un marché de fruits de mer, à Wuhan, en Chine. Le 9 janvier 2020, La Chine annonce l'identification d'un nouveau coronavirus comme agent étiologique de ces pneumonies (12). Le 30 janvier, l'OMS déclare cette épidémie comme une urgence de santé publique de portée internationale. Cette maladie a été nommée Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) et l'agent étiologique SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2) (13). La chronologie de la découverte des coronavirus est illustrée sur la figure 1.

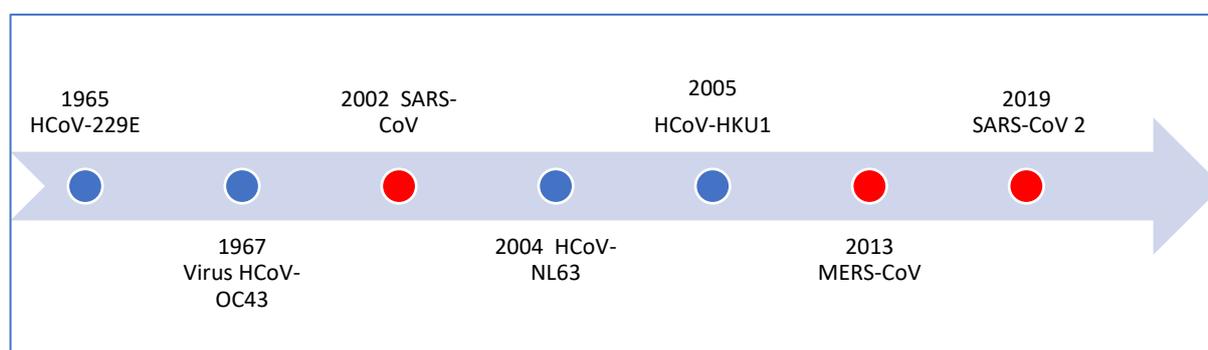


Figure 1 : Frise chronologique de la découverte des coronavirus humains

Taxonomie et classification

La taxonomie et la classification des virus sont proposées par Le Comité international de taxonomie des virus (ICTV). Selon l'ICTV, les coronavirus humains font partie de la famille des *Coronaviridae* et de la sous-famille des *Orthocoronavirinae*.

Cette sous-famille est organisée en quatre genres distincts : *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* et *Deltacoronavirus*. Les *Alphacoronavirus* comportent des coronavirus bénins touchant l'homme tels que les HCoV-229E, HCoV-NL63, mais aussi des virus animaux comme le coronavirus du chien, du chat, du porc et de nombreux virus provenant de la chauve-souris. Les genres *Gammacoronavirus* et *Deltacoronavirus* comportent uniquement des virus animaux. Les virus du genre *Betacoronavirus* infectent aussi bien les animaux que l'homme. Des coronavirus de cheval, de bovin, de porc, de souris ou de rat sont par exemple inclus dans ce genre. Parmi les virus humains appartenant au genre *Betacoronavirus* on retrouve des virus classiques comme HCoV-HKU1 et HCoV-OC43, ainsi que les coronavirus « épidémique » : SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV-2 (14).

Dans le genre *Betacoronavirus*, On distingue plusieurs sous-genres avec par exemple le *Sarbecovirus* comportant le SARS-CoV et le SARS-CoV-2. Le MERS-CoV quant à lui est classé dans le sous genre Merbecovirus.

La figure 2 présente les genres et les principaux virus de la sous-famille des *orthocoronavirinae*.

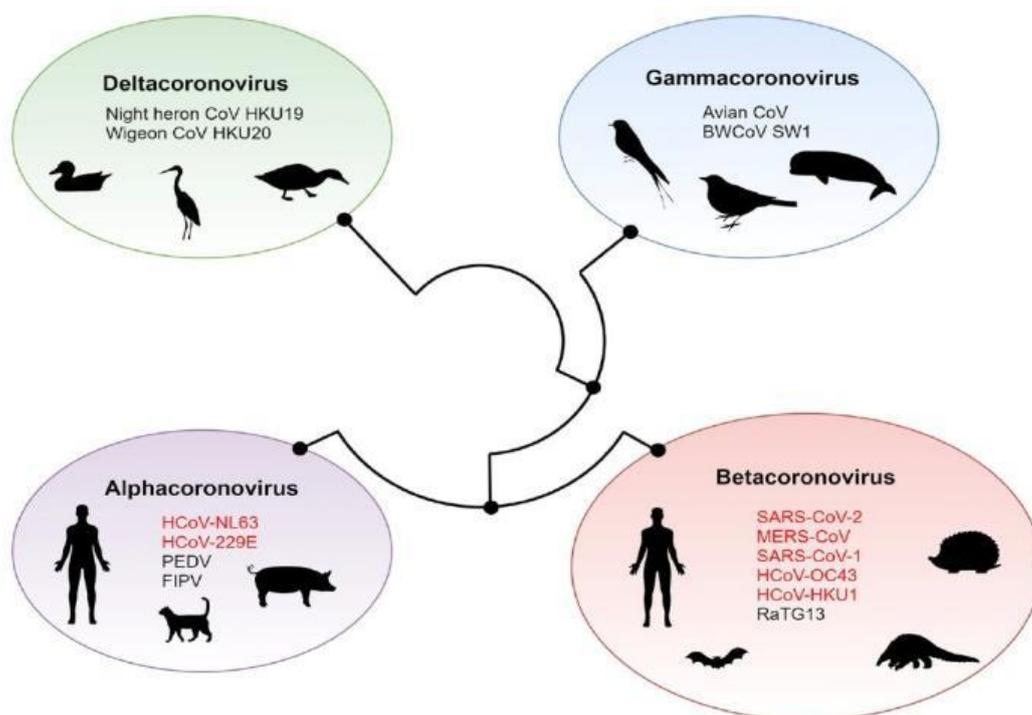


Figure 2 : Organisation en genres de la sous-famille des *Orthocoronavirinae* (15)

Origine zoonotique du SARS-CoV-2

L'origine du SARS-CoV-2 n'a pas été totalement élucidée à ce jour. L'hypothèse d'une origine zoonotique du virus repose d'une part sur l'analogie avec le SARS-CoV et le MERS-CoV, et d'autre part sur des comparaisons génomiques avec des coronavirus isolés chez les animaux.

Ainsi, en prenant en compte la totalité du génome, le SARS-CoV-2 se rapproche le plus du coronavirus isolé chez la chauve-souris *Rhinolophus affinis* (RaTG13), avec une homologie de séquence d'environ 96%. Le coronavirus isolé chez le pangolin présente quant à lui la plus forte homologie de séquence au niveau du site de liaison au récepteur de la protéine spike (receptor binding domain ou RBD), qui permet la liaison du virus au récepteur ACE2. Deux hypothèses sont évoquées pour l'acquisition de la séquence spécifique du domaine RBD de la protéine S par le SARS-CoV-2 : soit une recombinaison de séquence entre le coronavirus du RaTG13 et le coronavirus du pangolin, permettant d'augmenter son infectivité, soit par le biais d'une recombinaison entre l'ancêtre commun du coronavirus du RaTG13, du SARS-CoV-2, et le coronavirus du pangolin. Des mutations à posteriori du coronavirus du RaTG13 pourraient alors expliquer les différences avec le SARS-CoV-2. A travers ces hypothèses, le pangolin est proposé comme hôte intermédiaire bien que cette recombinaison soit possible dans un autre hôte intermédiaire (15).

Par ailleurs, la séquence du site de clivage polybasique n'a pas été retrouvée chez les animaux. Son apparition proviendrait d'une accumulation de mutations, insertions et délétions favorisées par la sélection naturelle en cas de circulation intense du virus dans une population. Cette hypothèse est donc compatible avec une sélection naturelle survenue chez l'animal (chauve-souris, pangolin ou autre hôte intermédiaire), avant la transmission de l'animal à l'homme qui se serait produite sur un marché de fruits de mer de Wuhan (16).

Une deuxième hypothèse de l'origine du virus serait que l'ancêtre commun du SARS-CoV-2 et du coronavirus du RaTG13 ait été directement transmis de l'animal à l'homme sans être détecté. L'adaptation à l'homme aurait été suivie d'une transmission interhumaine, à l'origine de la pandémie. Selon cette hypothèse, cet ancêtre commun présenterait déjà les mutations du domaine RBD, mais le site de clivage polybasique serait apparu entre le premier cas de transmission zoonotique estimé en fin novembre 2019 et le premier cluster le 31 décembre 2019 (16).

Epidémiologie

Prévalence au niveau mondial

Du début de la pandémie jusqu'en octobre 2021, environ 237 millions de cas positifs au COVID-19 ont été recensés, dont 4.8 millions de décès. Ce qui constitue un taux de mortalité toutes populations confondues à 2.1% (1).

Malgré la diffusion massive et mondiale de l'infection, la répartition des cas rapportés n'est pas homogène dans le temps sur l'ensemble des territoires du globe, des régions étant plus sévèrement touchées que d'autres (Voir annexe 1). Ainsi le nombre de cas était majoritaire en Amérique, en Europe et dans le Sud-Est asiatique. En Europe, 37 millions de personnes ont été infectées au 15 septembre 2021, avec un nombre de décès s'élevant à 759 072 (17).

Néanmoins, dans les autres régions moins développées, le nombre de cas est potentiellement sous-estimé à cause de l'accès difficile aux tests de biologie moléculaire notamment au début de la pandémie.

Prévalence en France

En France, au 15 septembre 2021, environ 7 millions de patients ont été infectés par le virus, avec approximativement 116 000 décès, ce qui indique un taux de mortalité à 1.7% (17). Une des problématiques majeures de cette pandémie a été la saturation des services de réanimation par les cas graves de COVID-19. La figure à l'annexe 3 présente les admissions en soins critiques entre Mars 2020 et Septembre 2021 (18).

Facteurs de risque

L'étude des facteurs de risque est importante pour classer les personnes dites « à risque de complications ». C'est un argument supplémentaire dans la mise en œuvre des mesures préventives et dans la prise en charge des patients.

L'âge avancé est le facteur de risque le plus associé aux formes graves de COVID-19 et aux décès. En prenant en compte la tranche d'âge 18-49 ans comme référentiel, le risque de décès est respectivement multiplié par trois, sept, dix et seize fois plus chez les 50-64 ans, 65-74 ans, 75-80 ans et les plus de 80 ans. Les risques de formes graves sont également majorés, chez les 85-89 ans présentant 5 fois plus de risque que les 40-44 ans (19).

En plus de l'âge, plusieurs comorbidités listées dans le tableau 1 ont été associées à un risque élevé d'hospitalisation ou de décès. Les profils polyopathologiques sont à

haut risque de décès. Ces derniers sont autant à risque que la tranche d'âge supérieure sans pathologies (19).

Tableau 1 : Facteurs de risques identifiés comme à risque d'hospitalisation et/ou de décès au cours de la COVID-19 (19)

Co-morbidités décrites dans la littérature	Co-morbidités non décrites dans la littérature mais identifié par les spécialistes	Autres pathologies
<ul style="list-style-type: none"> - Trisomie 21 chez des patients de plus de 40 ans - Transplantation d'organe solide ou cellule souche hématopoïétique - Insuffisance rénale chronique terminale 	<ul style="list-style-type: none"> - Diabète de type 1 et 2 - Obésité avec IMC > 30 kg/m², avec une augmentation du risque à IMC > 40 kg/m² - Cancer récent et/ou en progression et/ou sous chimiothérapie. Les cancers hématologiques ont un risque majoré. - BPCO, insuffisance respiratoire - Insuffisance cardiaque - Hypertension artérielle compliquée. 	<ul style="list-style-type: none"> - Maladies hépatiques chroniques (cirrhose) - Troubles psychiatriques - Démence - Accident vasculaire cérébrale

Transmission

Mode de transmission

Le mode de transmission majoritaire est la voie respiratoire, par des gouttelettes et des aérosols projetés par le nez et la bouche. Cette transmission peut être à distance dans un milieu non ventilé et clos, via la persistance d'une stase des aérosols dans l'air. La proximité entre deux sujets majore le risque d'infection. Les gouttelettes respiratoires semblent être plus infectantes que les aérosols, et l'infection survient par exemple lors de la parole, le chant, le cri ou l'éternuement. Les gouttelettes contaminées peuvent persister sur les surfaces et les objets selon la nature, la température, l'humidité et la luminosité. Ainsi, une mauvaise hygiène des mains et des surfaces est à risque accru d'infection. Néanmoins dans ces conditions, la transmission par aérosol dans des espaces clos n'a pu être écartée (20,21).

D'autres modes de transmission ont été suspectés mais n'ont pas été clairement prouvés. La présence d'ARN viral dans le liquide séminal, le liquide vaginal, le sang et le lait maternel ont ouvert l'hypothèse d'une transmission sexuelle, sanguine et mère-enfant. Néanmoins, le virus n'a jusqu'alors été isolé dans aucune de ces matrices, et aucune documentation d'une transmission n'a été rapportée. Toutefois, chez les nouveau-nés, la présence d'IgM et une RT-PCR positive dans les premiers jours de vie laissent suspecter une infection in utero, via une transmission transplacentaire. Ces cas restent néanmoins très rares (20).

Période de transmission

La transmission du virus peut aussi bien survenir chez les patients symptomatiques qu'asymptomatiques. Selon les études, la durée moyenne d'incubation du virus a été initialement fixée autour de 5,2 jours, mais les données ultérieures ont montré qu'elle peut être différente en fonction du variant circulant. Celle-ci est estimée entre 2 et 14 jours. La contagiosité commence entre 2 et 3 jours avant l'apparition des signes cliniques, avec un pic à J-1. Elle diminue ensuite jusqu'à atteindre son minimum à J7. La charge virale quant à elle ne suit pas la même cinétique (20).

Parmi les patients immunocompétents, l'ARN viral est détectable pendant une médiane de 20 jours après les symptômes, pour un maximum à J-37 pour les patients survivants. Néanmoins, dans cette population, le virus n'est cultivable et donc infectant que durant les 8 premiers jours (22).

Néanmoins, les patients immunodéprimés auront une cinétique différente. L'excrétion virale a été mise en évidence en RT-PCR jusqu'à J-65. Plus intéressant encore, le virus a pu être cultivé à J-59. Le clinicien doit prendre en compte cet allongement d'excrétion virale chez les patients immunodéprimés, car ils demeurent potentiellement infectants à M2 (23).

Structure et génome du SARS-CoV-2

Structure du virus

Les virus de la famille des *coronaviridae* sont des particules pléiomorphiques, grossièrement sphériques, enveloppés, d'une taille de 125 nm de diamètre environ. L'enveloppe porte à sa surface de hautes projections formées de la protéine de surface S (spike) et disposées en couronne, d'où le préfixe « corona ». La protéine S comporte deux sous-unités : la sous-unité S1 dans laquelle est situé le domaine de liaison au récepteur (RBD) et la sous-unité S2 qui comporte le peptide de fusion.

Deux autres protéines sont enchâssées dans l'enveloppe du SARS-CoV-2 : la protéine de membrane (M) et la protéine d'enveloppe (E). La capside, de symétrie hélicoïdale, est constituée de la protéine N qui entoure le génome viral. (2,24)

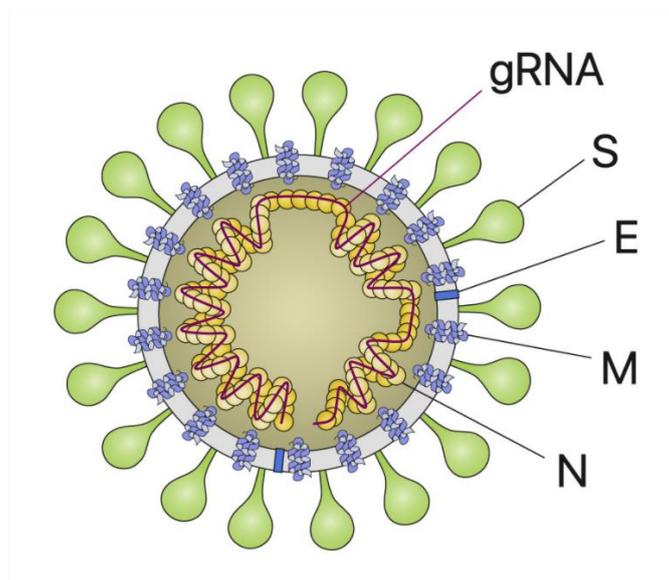


Figure 3 : Structure du syndrome respiratoire aigu sévère – Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) (25)

Génome

Le génome du SARS-CoV-2 est constitué d'une molécule d'ARN simple brin de polarité positive. Avec une longueur d'environ 30 000 nucléotides, c'est le génome avec la plus grande taille en pathologie humaine. Il comporte plusieurs cadres ouverts de lecture et code environ 30 protéines. Le génome possède une extrémité 5- coiffée et une queue polyadénylée (polyA) en 3'. Dans le sens 5'-3', on distingue :

- A l'extrémité 5', une séquence leader et une séquence non codante.
- Une séquence codante ORF1ab (deux cadres de lecture ORF1a et ORF1b), recouvrant approximativement 2/3 du génome viral et codant une polyprotéine non-structurale scindée en 16 protéines non structurales essentielles au cycle viral dont l'ARN polymérase ARN dépendante (RdRp).
- Quatre gènes codants pour des protéines de structure : gènes S, E, M, N consécutivement (24).
- Six gènes codant des protéines accessoires qui sont présents entre les gènes des protéines de structure

La figure 4 présente l'organisation du génome du SARS-CoV-2 ainsi que les ARN subgénomiques synthétisés.

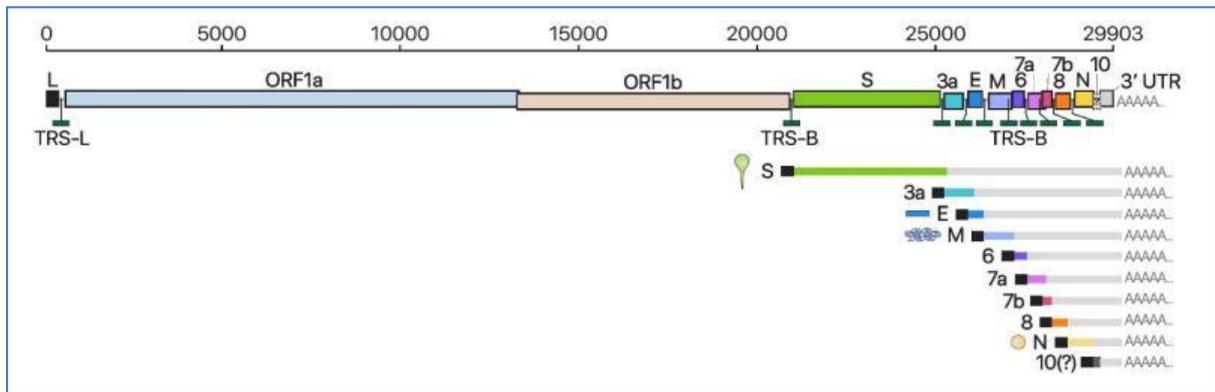


Figure 4 : Représentation complète du génome du SARS-CoV-2 ainsi que les ARN subgénomiques synthétisés (25)

Protéines structurales

Le génome viral du SARS-CoV-2 code pour 4 protéines de structure : une protéine de surface (protéine Spike ou S), une protéine de membrane (M), une protéine d'enveloppe (E) et une protéine de nucléocapside (N).

Protéine de surface (protéine S) : Cette glycoprotéine est d'un poids moléculaire d'environ 142000 kDa pour 1273 AA. La protéine S est une protéine de fusion de type I organisée en trimères. La partie globulaire, ou sous-unité S1, permet la liaison du virus à son récepteur cellulaire. Elle comporte un domaine de liaison au récepteur (RBD) reconnaissant le récepteur à l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) (26). La sous-unité S2 est composée d'un peptide de fusion, d'un site protéolytique avec un peptide de fusion inclus dans ce site ainsi que des motifs de répétitions HR1/HR2 (27).

Protéine de membrane (protéine M) : La protéine M est plus abondante. Elle contient un court ectodomaine N-terminal, trois domaines transmembranaires connectés à un endodomaine C-terminal intracellulaire. Il peut être retrouvé sous forme longue ou compact. La protéine M du SARS-CoV 2 est N-glycosylée (26). Elle permet l'assemblage du virus ainsi que la capture des différentes protéines de structures essentielles à la formation du nouveau virion. Des liaisons de protéines M tapissent le versant intracellulaire de la membrane plasmique responsable de la rigidité membranaire.

Protéine d'enveloppe (protéine E) : Protéine courte, transmembranaire composée de 76 à 109 acides aminés pour un poids de 8.4 à 12 kDa. Sa structure contient une courte extrémité extracellulaire hydrophile, un large domaine transmembranaire hydrophobe ainsi qu'un domaine intracellulaire carboxylé hydrophile. Les fonctions de cette protéine ne sont pas totalement élucidées. Elle aurait un rôle dans

l'assemblage et la libération du virion. La protéine E, en interaction avec la protéine M, aurait un rôle dans la courbure de la membrane donnant cet aspect sphérique (26,28).

Protéine de la nucléocapside (protéine N) : Elle a un rôle dans le cycle viral et dans la réponse cellulaire. Elle s'associe avec le génome viral afin pour former la nucléocapside. Cela permet la protection, la réplication du génome ainsi que la transmission du génome viral. L'interaction entre la protéine M, l'ARN et la protéine N est indispensable à l'assemblage du virion. La protéine N aurait un rôle dans la transcription et la traduction du génome. Elle participe comme toutes les protéines de structure à l'assemblage du virion (29).

Variabilité génétique

Les Coronavirus présentent une grande diversité génétique qui est liée à la plasticité de leur génome. Cette diversité est liée à plusieurs facteurs : les mutations ponctuelles, les « indels » (insertions et délétions) et les événements de recombinaison (30).

Les coronavirus possèdent un long génome à ARN de polarité positive. Le taux de mutation du virus est significativement plus élevé que les virus à ADN. Ce taux est estimé entre 8×10^{-4} et 1.79×10^{-3} . Néanmoins, il est considéré comme plus faible par rapport à d'autres virus à ARN. Ceci s'explique par la présence d'une relecture via une exonucléase, permettant de diminuer le taux d'erreur et le nombre de mutations (24,31).

L'évolution génétique suite à des mutations dans le génome viral reste donc toutefois un phénomène attendu pour le SARS-CoV-2, et a été rapidement confirmée par l'émergence de nombreux variants.

Le premier variant décrit par rapport au virus initial isolé à Wuhan est un variant présentant une mutation A → G en position 23 403, avec comme conséquence la substitution d'un acide aspartique par une glycine en position 614 (mutation D614G) sur la protéine S. Ce variant apparu en Mars 2020 a été démontré comme possédant une infectivité accrue, permettant sa diffusion dans le monde entier. La quasi-totalité des souches circulant après Mars 2020 portent cette mutation.

Une surveillance renforcée des variations génétiques du SARS-CoV-2 au niveau mondial a été rapidement possible grâce à une augmentation des capacités de

surveillance génomique (séquençage du virus). Les séquences produites dans chaque pays sont partagées dans des bases de données internationales, notamment la base de données GISAID (Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data)

Plusieurs outils sont utilisés en pratique pour la nomenclature de ces variants comme par exemple la classification Nexclade (<https://clades.nexstrain.org/>) qui propose une classification en clade ou la nomenclature PANGO, plus dynamique, qui réalise une assignation de lignage, permettant un meilleur suivi de l'évolution des variants (32–35).

Au-delà de la nomenclature, la classification des variants est réalisée en catégories selon une analyse du risque associé aux caractéristiques du virus (augmentation de la transmissibilité, de la gravité de l'infection ou encore l'échappement immunitaire). Ces catégories sont proposées par l'OMS et les instances nationales.

Nous présenterons ici la classification de Santé Publique France dont l'analyse de risque a conduit au classement des variants évalués en trois catégories :

- Variant préoccupant ou variant of concern (VOC) : variant pour lequel il a été démontré en comparant avec un ou plusieurs virus de référence et :
 - Une augmentation de la transmissibilité ou un impact défavorable sur l'épidémiologie du COVID-19
 - Une augmentation de la gravité ou un changement de la présentation clinique
 - Une diminution de l'efficacité des mesures de contrôle mises en place (mesures de prévention, tests diagnostiques, vaccins, molécules thérapeutiques)
 - Ou classement en VOC par l'OMS

- Variant à suivre ou variant of interest (VOI) :
 - Variant caractérisé par un changement phénotypique par rapport à un virus de référence ou des mutations qui conduisent à des changements en acides aminés associés à des implications phénotypiques confirmées ou suspectées :
 - Et responsable d'une transmission communautaire (multiples cas confirmés ou clusters), ou a été détecté dans de multiples pays.
 - Ou classement en VOI par l'OMS

- Variant en cours d'évaluation :
 - Absence d'éléments virologiques, épidémiologiques ou cliniques probants en faveur d'un impact en santé publique en France, malgré la présence de mutations retrouvées chez un ou plusieurs variants d'intérêt/à suivre (36).

Tableau 2 : Classement des variants du SARS-CoV-2 en fonction des critères établis par Santé Publique France (36)

Classement des variants du SARS-CoV-2 en France, 22/09/2021		
Variants préoccupants (VOC)	Variants à suivre (VOI)	Variants en cours d'évaluation (VUM)
20I (V1, B.1.1.7 +/- E484K/Q, Q.*, Alpha) 0,1% des séquences (Flash#22)	21G (C.37, Lambda) Non détecté depuis Flash#16	20A (B.1.620) Non détecté lors de Flash#22
20H (V2, B.1.351/ B.1.351.*, Beta) Non détecté depuis Flash#19	21H (B.1.621/B.1.621.1, Mu) 0,1% des séquences (Flash#22)	20B (B.1.1.318) <0,1% des séquences (Flash#22)
20J (V3, P.1/P.1.*, Gamma) <0,1% des séquences (Flash#22)		20D (C.36.3) Non détecté depuis Flash#19
21A (B.1.617.2/AY.*, Delta) 99,6% des séquences (Flash#22)		20D (C.1.2) Jamais détecté lors d'enquêtes Flash

Tableau 3 : Détection, mutations et caractéristiques des VOC (37–39)

VOC	Alpha	Beta	Gamma	Delta
Détection	Septembre 2020 Angleterre	Septembre 2020 Afrique du Sud	Décembre 2020 Brésil	Décembre 2020 Inde
Mutations d'intérêts de la protéine Spike	N501Y D614G P681H	K417N E484K N501Y D614G A701V	K417T E484K N501Y D614G H655Y	L452R T478K D614G P681R
Caractéristiques	Risque majoré d'hospitalisation et d'admission en soins intensif pour les moins de 60 ans			Infecte un groupe plus jeune de patient (10-50 ans) 2 fois plus contagieuse par rapport aux variants précédents. 2 fois plus de risques d'hospitalisation comparativement au variant Alpha.
		Mortalité plus élevée par rapport à B.1.1.7		

Cycle viral

Le cycle viral du SARS-CoV-2 peut être subdivisé en trois grandes étapes : (i) l'entrée du virus dans la cellule hôte, (ii) la réplication du génome et (iii) la formation et la libération de nouvelles particules virales.

Attachement et entrée du virion

La protéine S est responsable de la reconnaissance du récepteur cellulaire du SARS-CoV-2 qui est l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2). Plus précisément, c'est le RBD contenu dans le domaine S1 de la protéine qui porte l'activité de liaison au récepteur. Le domaine S2 permet la fusion des membranes virales/cellules cibles lorsque S1 est arrimé (27). La fusion est initiée à la suite d'importants réarrangements conformationnels de la protéine S qui résultent de son clivage protéolytique par des protéases cellulaires. Deux voies d'entrées s'offrent au virus selon la protéase utilisée : (i) la voie directe majoritaire qui fait suite au clivage protéolytique par la TMPRSS2 (transmembrane protease serine subfamily member 2). Cette protéase est localisée sur la membrane cellulaire, et la fusion sera réalisée directement à la surface de la cellule ; (ii) la voie endosomale avec une internalisation dans le cytoplasme via un endosome clathrine dépendante ou indépendante, et l'intervention de protéases endosomales (40).

Réplication virale

La fusion s'accompagne de la libération du génome viral dans le cytoplasme. L'ARN viral positif sert de matrice à la synthèse des deux polyprotéines pp1a et pp1ab (à partir des cadres de lecture ORF1a et ORF1b) qui formeront le complexe replicase-transcriptase (RTC) après leur maturation. Les polyprotéines pp1a et pp1ab fourniront respectivement 11 et 16 protéines non structurales (nsp) dont les protéases de type papaine PLpro (nsp3) et Mpro (nsp5) (25,27,41). La PLpro permet le clivage des sous-unités précédant le nsp4, le Mpro à partir de nsp5. Elles permettront la génération de protéines non structurales à partir des polyprotéines pp1a et pp1ab par clivage protéolytique (41,42).

Le RTC localisé au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique se compose de nsp 2 à 16. Les protéines nsp 2 à 11 modulent l'évasion immunitaire et les protéines nsp 12 à 16 ont une activité enzymatique. La protéine nsp12 ou RdRp (RNA dependent RNA polymerase) qui est une ARN polymérase avec une activité

exonucléase assurant une meilleure fidélité via une relecture de l'ARN synthétisé (42).

Le RTC initie ensuite les étapes de réplication successives de l'ARN génomique. Les réplicons ainsi constitués seront encapsulés dans les futurs virions. Le complexe réalisera également la transcription de l'ensemble des ORF codant les protéines structurales et accessoires, sous la forme d'un ARN messagers (ARNm) dits « sous-génomiques ».

La réplication de l'ARN génomique repose sur la synthèse initiale d'un intermédiaire ARN négatif qui sert ensuite de matrice pour la synthèse des ARN génomiques de pleine longueur. La réplication de l'ARN génomique est un processus de synthèse continue. Le mécanisme de transcription quant à lui est discontinu avec la synthèse d'ARN sous-génomiques (de différentes longueurs, selon la région transcrite) qui vont coder pour des protéines accessoires et structurales (25,42).

Assemblage du virus et libération

La traduction des protéines de structure s'initie dans le réticulum endoplasmique rugueux de la cellule. La protéine N entoure l'ARN. La protéine M permettra l'assemblage des protéines de structure de la nucléocapside, de l'enveloppe et de la protéine spike. Ce virion assemblé se transmet à la membrane cellulaire via un transport vésiculaire. Cette vésicule fusionnera avec la membrane plasmique permettant la libération par exocytose des nouvelles particules virales formées dans l'espace extracellulaire (27).

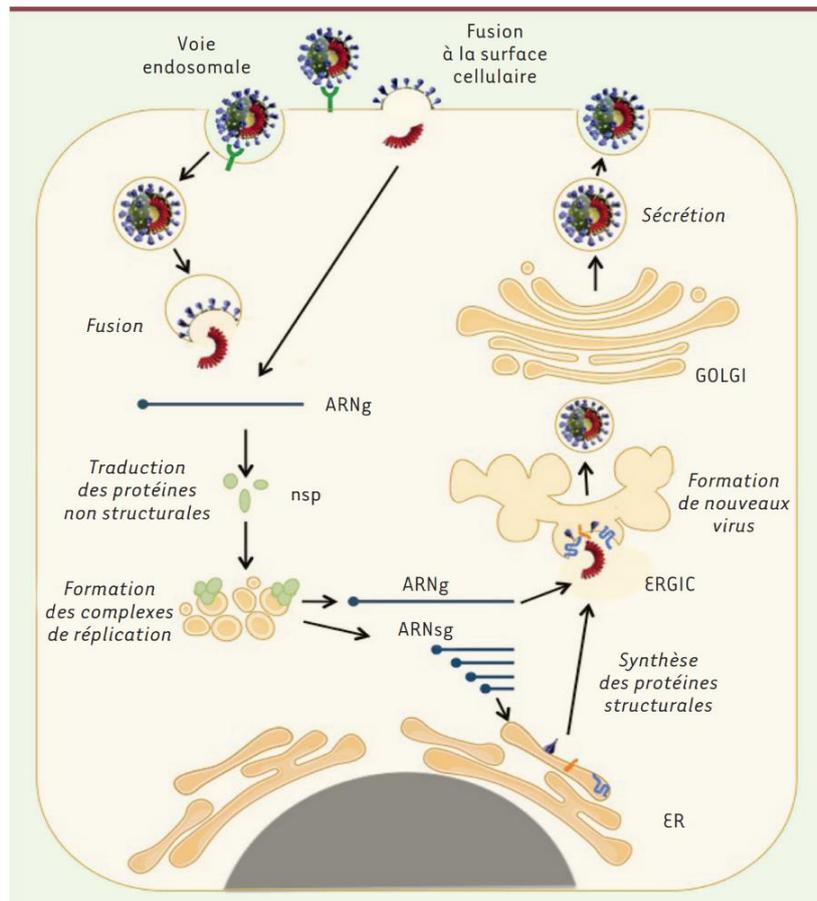


Figure 5 : Cycle cellulaire des coronavirus humains (40)

Manifestations cliniques

Le SARS-CoV 2 fait partie des coronavirus hautement pathogènes. Contrairement aux coronavirus bénins infectant l'homme, le spectre clinique du SARS-CoV-2 est large, s'étendant des formes asymptomatiques ou paucisymptomatiques jusqu'aux formes graves, imposant une prise en charge en service de réanimation, et pouvant se compliquer d'atteintes systémiques et multiorganiques, de choc septique et de défaillances multiviscérales.

Infections asymptomatiques

Si les infections asymptomatiques sont une réalité dans la COVID-19, la proportion exacte de personnes infectées par le SARS-CoV-2 et demeurant asymptomatiques est encore mal définie. Plusieurs méta-analyses ont retrouvé des proportions assez variables dans la population dépistée. Globalement, la prévalence de ces infections asymptomatiques pourrait se situer entre 20 et 50% (43).

A titre d'illustration, une étude menée dans un établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) a montré que 54% (42-65%) des résidents étaient asymptomatiques au moment du test et que 28% (13-50%) d'entre eux

demeuraient asymptomatiques pendant toute la période de suivi (44). De même, les tests réalisés à la suite de cas sur le bateau de croisière Diamond Princess, ont mis en évidence que 17,9% des sujets infectés étaient asymptomatiques (45).

Infections symptomatiques

Selon le CDC les symptômes peuvent apparaître entre 2 et 14 jours après l'exposition au virus. Les patients symptomatiques peuvent développer une forme bénigne (40%) ou modérée (40%) de la maladie. Celle-ci s'aggrave chez environ 15% des patients, avec un besoin d'apport en oxygène, et 5% des patients présentent un état critique nécessitant une prise en charge en réanimation.

Infection symptomatique légère à modérée

Il s'agit d'une infection virale des voies aériennes supérieures. Les symptômes les plus courants sont la fièvre, la toux et une asthénie. Les autres symptômes, moins courants, sont une perte d'odorat (anosmie), du goût (agueusie), des maux de gorge, une congestion nasale, des céphalées, des arthralgies et myalgies, une conjonctivite, des signes digestifs à type de diarrhées, nausées et vomissements, ou encore une éruption cutanée. Dans ces formes, les symptômes respiratoires tels que la toux et la sensation d'un souffle court ne sont pas accompagnés de signes d'atteinte pulmonaire sévère (46).

Infection sévère

Les formes sévères de COVID-19 se présentent sous forme de pneumonie avec une toux, une dyspnée et des infiltrats à la tomodensitométrie thoracique. Le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) avec une tachypnée (fréquence respiratoire > 30 cpm) et une hypoxémie ($SpO_2 < 90\%$ en air ambiant), est une complication majeure de la pneumonie à COVID-19 chez les patients atteints de forme grave. Dans ces formes, un apport en oxygène par voie nasale est nécessaire chez environ 50% des patients hospitalisés. Une ventilation mécanique non invasive est indispensable pour environ 30% des patients et moins de 3% nécessitent une ventilation mécanique invasive, avec ou sans oxygénation par membrane extracorporelle (ECMO) (47).

L'OMS a défini trois niveaux de sévérité de la COVID-19 :

- Une forme non sévère, définie comme l'absence de tout signe de forme sévère ou critique de la COVID-19.
- Une forme sévère, avec la présence de l'un des éléments suivants : saturation en oxygène <90% en air ambiant, fréquence respiratoire > 30 respirations par

minutes, signes de détresse respiratoire sévère (utilisation des muscles accessoires, incapacité à former une phrase complète...).

- Une forme COVID-19 avec un état critique : définie par les critères du syndrome de détresse respiratoire aiguë, un état septique, un choc septique ou d'autres problèmes nécessitant normalement des soins vitaux, comme la mise sous ventilation mécanique (invasive ou non invasive) ou l'administration de vasopresseurs (43).

Diagnostic biologique du SARS-CoV-2

Dans ce chapitre, nous parlerons essentiellement du diagnostic direct. Les tests sérologiques utilisés pour le diagnostic indirect seront détaillés dans le chapitre « évaluation de la réponse immunitaire ».

Test d'amplification des acides nucléiques (TAAN)

La stratégie de diagnostic direct de l'infection par le SARS-CoV-2 est essentiellement basée sur la technologie d'amplification des acides nucléiques. La PCR en temps réel après transcription inverse (RT-PCR) est le gold standard pour le diagnostic précoce. La RT-PCR présente de bonnes performances (sensibilité >95% et spécificité proche de 100% au cours de la période d'excrétion virale), et permet d'avoir un débit suffisant pour un dépistage à grande échelle de la population (48).

Modalités de prélèvement

Il est recommandé de réaliser un prélèvement nasopharyngé pour la détection du SARS-CoV-2 par RT-PCR. Un écouvillon est introduit dans la cavité nasale perpendiculairement au plancher buccal afin de venir prélever les cellules du nasopharynx. La sensibilité de ce type de prélèvement est supérieure aux prélèvements oro-pharyngés et à la salive. Ces derniers peuvent être utilisés lors de dépistages massifs ou en cas de contre-indications au prélèvement nasopharyngé (comme par exemple la petite enfance ou une anomalie anatomique ORL). Les prélèvements respiratoires profonds (prélèvements trachéaux, liquide broncho-alvéolaire...) sont les prélèvements les plus sensibles et doivent être systématiquement réalisés en cas d'atteintes respiratoires basses. Le virus peut être détecté dans d'autres prélèvements comme les selles mais ce prélèvement ne doit pas être utilisé isolément pour le diagnostic (49,50).

Le prélèvement doit être réalisé lorsque l'excrétion virale est à son maximum afin d'augmenter la sensibilité du test. Dans le prélèvement nasopharyngé chez l'immunocompétent avec une infection non compliquée, le pic d'excrétion virale se situe habituellement entre J-1 et J3 (par rapport à l'apparition des symptômes). Elle diminue de manière significative à J+7 (48). Au-delà de la première semaine, on peut observer une meilleure détection dans les prélèvements profonds en cas d'atteinte pulmonaire et dans les selles.

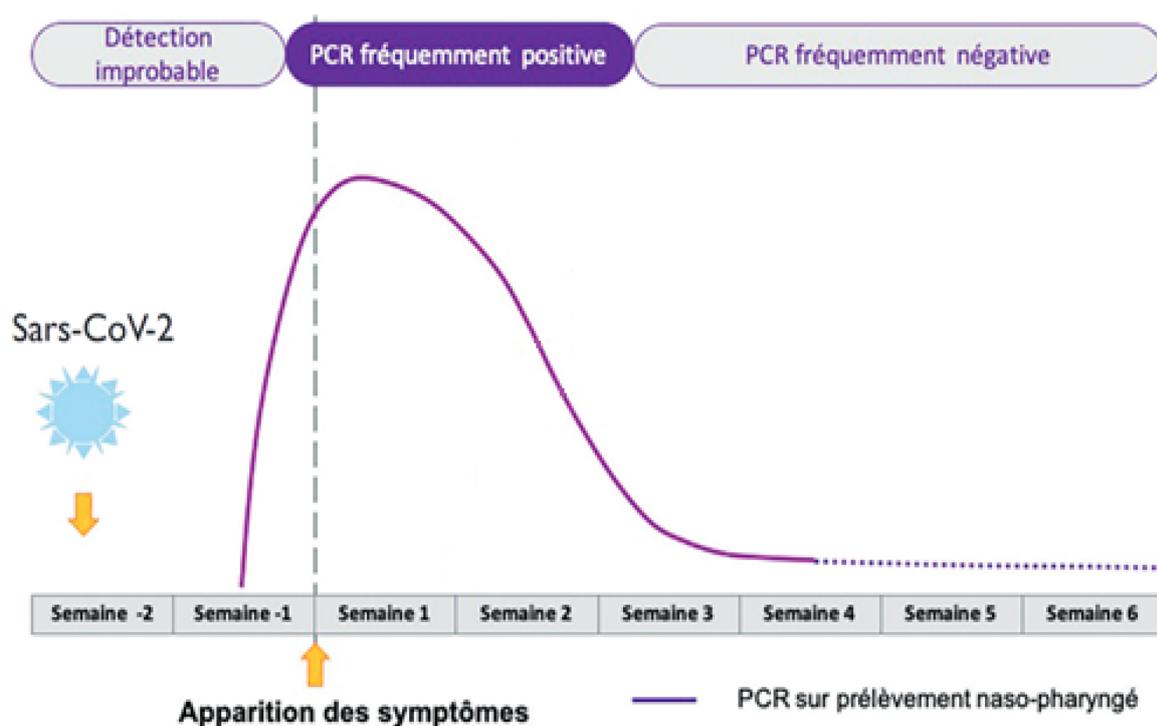


Figure 6 : Détection de l'ARN du SARS-CoV-2 dans le prélèvement nasopharyngé (48)

Cibles amplifiées et méthodes

Les régions habituellement amplifiées en RT-PCR ciblent les protéines E, N, S et la RdRp. Les premiers travaux avaient montré que RdRp donnait la meilleure sensibilité, et que la région S permettait d'améliorer la spécificité. L'OMS a recommandé l'utilisation des gènes RdRp, E, N et S dans différentes combinaisons (48). Les premières techniques sont des techniques « maison » inspirées de celle décrite par Corman et al (51). Ainsi, en France, le CNR des virus respiratoires a très rapidement fourni aux laboratoires de diagnostic un protocole ciblant deux régions différentes du gène RdRp. Mais très rapidement, de nombreuses trousse commerciales ont été mises sur le marché, avec le plus souvent des performances similaires (48). La figure 7 présente les étapes en pratique du diagnostic de la COVID-19 par RT-PCR.

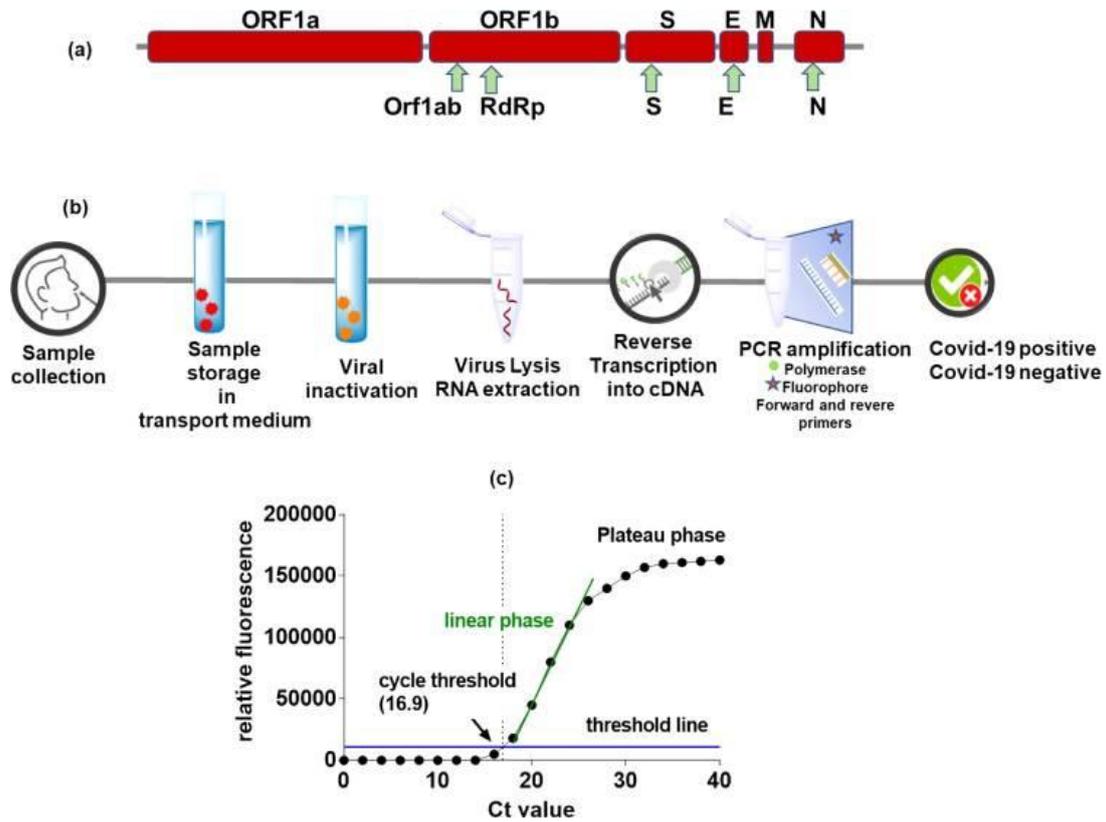


Figure 7 : Etape du diagnostic du SARS-CoV-2 par technique de RT-PCR (52)

A côté des méthodes classiques permettant de réaliser le plus souvent des séries, des techniques rapides permettant l'obtention d'un résultat en moins d'une heure, ont été mises en place en RT-PCR simple comme par exemple sur la plate-forme GenXpert (Cepheid®) ou en RT-PCR multiplex comme par exemple la plate-forme Filmarray (Biomerieux®).

Le tableau 4 présente quelques exemples de méthodes utilisées en routine dans les laboratoires de diagnostic.

Tableau 4 : Méthodes de RT-PCR utilisées en routine pour le diagnostic du SARS-CoV-2 (52)

Développeur	Kit	Extraction	Amplification	Cycleur
Thermofisher Scientific	TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit	MGI Nucleic Acid Extraction Kit on the MGI SP-960 instrument	ORF1ab, S, N	QuantStudio Real-Time PCR System (Applied Biosystems)
Altona Diagnostics	RealStar SARS-CoV-2 RT-PCR Kit 1.0	AltoStar Purification Kit 1.5 extraction Kit on Altostar Automation System AM16	E, S	CFX96 Touch Deep Well Real-Time PCR Detection System (BioRad Laboratories)
Beijing Genomics Institute	Real-Time Fluorescent RT-PCR Kit for Detecting SARS-CoV-2	MGI Nucleic Acid Extraction Kit on the MGI SP-960 instrument	ORF1	QuantStudio 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)
Diasorin Molecular	Simplexa COVID-19 direct	Aucun	S, ORF1ab	LIAISON MDX
BD	BD SARS-CoV-2 reagents for BD MAX system	BD MAX ExK TNA-3	N1, N2	BDMAX
Seegene	AllPlex 2019 n-CoV assay	StarMag 96 Extraction Kit on Microlab Nimbus	E, N, RdRp	CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories)
Qiagen	QIAstat-Dx respiratory panel	Included automated RNA extraction	E, ORF1b	QIAstat
Cepheid	Xpert Xpress SARS-CoV-2	Included automated RNA extraction	N2, E	GeneXpert Infinity
Institut Pasteur Paris	Développement en laboratoire	QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, France)	RdRp (2 régions cibles, IP2/IP4)	7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems)

TAAN alternatives à la RT-PCR

Test RT-LAMP

Le test RT-LAMP est une méthode d'amplification isothermique sans extraction des acides nucléiques, qui a l'avantage d'une relative rapidité, permettant de disposer d'un résultat en 40 minutes. Les performances de cette approche sont habituellement en dessous de celles de la RT-PCR qui reste le gold standard. Néanmoins, des tests RT-LAMP intégrés sur salive ont été développés et selon les données colligées par la HAS, les performances diagnostiques du test RT-LAMP intégré étaient satisfaisantes pour les patients symptomatiques (une sensibilité clinique de 84%, une spécificité clinique de 99%) avec un mode de prélèvement plus acceptable que le prélèvement nasopharyngé (53). Toutefois l'avis favorable rendu par la HAS en novembre 2020, a été récemment suspendu en raison de données nouvelles de performance, et de l'existence d'alternatives fiables présentant les mêmes niveaux d'acceptabilité ou de rapidité (54).

Test TMA

Le test TMA (Transcription Mediated Amplification) a été également utilisé pour la détection du SARS-CoV-2. C'est le cas du test Aptima (Hologic ®). Les performances de cette approche sont proches de celle de la RT-PCR (55).

Tests antigéniques

Les tests antigéniques sont essentiellement basés sur une technique d'immunochromatographie à lecture manuelle ou automatisée. Malgré une plus faible performance comparativement aux techniques de RT-PCR, notamment en terme de sensibilité (de 68% à 90% selon la HAS), leur rapidité de rendu de résultat (10 à 15 minutes) permet d'étudier un grand nombre de patients et peut être utile chez des patients symptomatiques (48,56).

Ces tests détectent des antigènes du SARS-CoV-2 (majoritairement de nucléocapside) à partir d'un prélèvement nasal ou nasopharyngé. Ils sont utilisables lors des 7 premiers jours post-symptôme, avec une recommandation proposée lors des 4 premiers jours chez les patients symptomatiques, lorsque la charge virale est importante. La facilité de réalisation et d'interprétation de ces tests facilitent l'accès au diagnostic précoce de l'infection et peut contribuer à limiter les contaminations. Ils ont été parfois utilisés dans le cadre d'un dépistage organisé en population ciblée (56).

Réponse du système immunitaire contre le SARS-CoV-2

Immunité innée

Généralités sur la réponse de l'immunité innée

Le scénario général

L'immunité innée est la réponse initiale du système de défense face à un pathogène. Sa mise en place est rapide, non spécifique et nécessaire pour la réponse adaptative ultérieure. Sa mise en œuvre est un facteur pronostique de la maladie. Ainsi, une mise en place tardive de celle-ci, notamment chez les patients immunodéprimés, majore le risque d'infection sévère (57).

L'entrée du virus dans les cellules cibles et sa réplication entraînent la libération de motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs), qui sont reconnus par les récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR) des cellules voisines (épithéliales, macrophages alvéolaires). Cette reconnaissance s'accompagne d'une production d'interférons, de cytokines pro-inflammatoires et de chémokines qui permettent le recrutement de différentes cellules (monocytes, macrophages, cellules NK, cellules dendritiques, lymphocytes T) pour amplifier la réponse innée et pour contribuer à l'initiation de la réponse adaptative ultérieure (58,59).

En dehors des acteurs cellulaires des cytokines/chémokines, le système du complément est également impliqué dans la réponse innée au SARS-CoV-2 à travers l'activation des voies classiques, alterne du complément ainsi que la voie des lectines.

Mécanismes de la reconnaissance par les senseurs de l'immunité innée

Le SARS-CoV-2 peut être détecté par plusieurs senseurs de l'immunité innée (PRR) : les TLR (Toll-like receptor) notamment 3, 7 et 8 situés dans le compartiment endosomal/lysosomal et les RLR (retinoic acid-inductible gene-I-like receptor) situés au niveau du cytosol notamment le RIG-I (retinoic acid-inductible gene-I) et le MDA5 (melanoma differentiation-associated protein 5).

La détection de l'ARN viral par les TLR permet le recrutement de protéines adaptatrices contenant le domaine TIR (Toll-interleukin receptor) comme la protéine

MyD88 (myeloid differentiation factor 88), conduisant à l'activation des facteurs transcriptionnels IRF3 et IRF7 nécessaires à l'induction des interférons à activité antivirale, et du facteur transcriptionnel NF-κB permettant l'induction de cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines. La signalisation MDA5 quant à elle induit une réponse antivirale via l'activation de la protéine MAVS (mitochondrial antiviral signaling protein). La figure 8 présente la reconnaissance du SARS-CoV-2 par les senseurs de l'immunité innée (60).

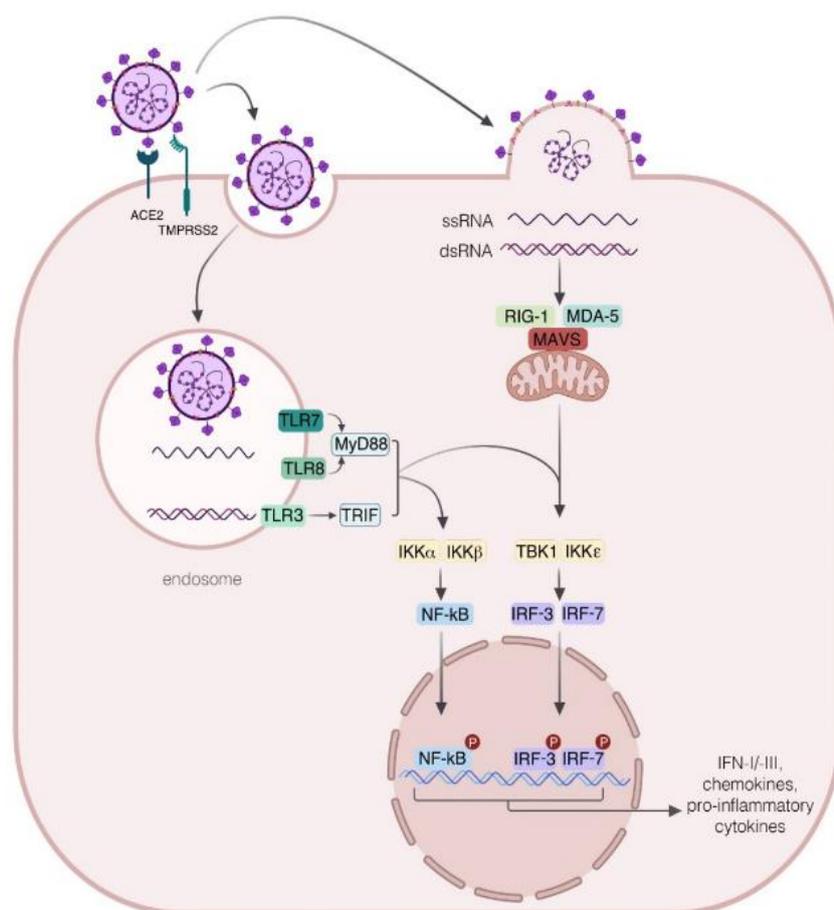


Figure 8 : Reconnaissance et cascade d'activation lors de la reconnaissance du SARS-CoV-2 (60)

Conséquences de la réponse de l'immunité innée

Deux modalités peuvent être observées pour cette réponse :

- Une réponse immunitaire saine avec un contrôle de la réplication virale qui se traduit par l'obtention de la clairance virale des cellules infectées et un tableau clinique non sévère.
- Une réponse immunitaire dysfonctionnelle avec une infiltration excessive des monocytes/macrophages et des lymphocytes T, pouvant conduire à un orage cytokinique et à des lésions tissulaires graves (58).

Les médiateurs solubles et cellulaires contribuent à ces deux résultats opposés, bien que les mécanismes qui font pencher la balance d'un côté ou d'un autre ne soient pas encore entièrement élucidés.

Interférons de type I et III

Production et activité

Les interférons sont répartis en trois groupes principaux : les IFN de type I (principalement IFN- α/β), de type II (IFN- γ) et de type III (IFN- λ). Les IFN de type I et III ont une activité antivirale et sont produits par les cellules nucléées après une infection virale, en plus des cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC) spécialisées dans la production d'IFN qui peuvent également détecter la présence de virus en l'absence de réplication virale productive. L'IFN de type II ou l'IFN- γ est principalement produit par les cellules NK et les cellules T helper 1 (Th1) et joue un rôle central dans la régulation de l'immunité innée et adaptative contre plusieurs pathogènes (61).

Les IFN de type I produits par les cellules infectées se lient au récepteur IFN (IFNAR) composé des sous-unités IFNAR1 et IFNAR2 et, par l'activation de la tyrosine kinase 2 et de la Janus kinase 1, permettent la phosphorylation des transducteurs de signaux et des activateurs de la transcription (STAT1 et STAT2). Les STAT phosphorylées forment avec l'IRF-9 un complexe qui, après translocation nucléaire, initie la transcription des gènes stimulés par l'IFN (ISG ou interferon-stimulated genes). La signalisation de l'IFN de type III se fait via un récepteur de surface différent qui s'exprime principalement sur les cellules épithéliales, mais partage avec l'IFN de type I la même cascade intracellulaire. En conclusion, les IFN de type I et III protègent les cellules hôtes en induisant l'expression d'une pléthore d'ISG codant pour des protéines interférant avec la réplication virale et, ainsi, limitent à la fois la propagation virale et la charge virale (60).

Données sur les interférons de type I chez les sujets infectés par le SARS-CoV-2

Plusieurs données démontrent l'importance de la réponse anticorps dans le contrôle de l'infection par le SARS-CoV-2. Ainsi, la présence d'anticorps neutralisants ciblant des sous-types d'IFN de type I chez environ 10 % des patients sévères peut contribuer à une altération de l'expression de cette réponse (62). De même une absence de détection d'IFN- β et des taux faibles d'IFN- α ont été associés à une

charge virale sanguine élevée et observés chez les patients COVID-19 graves, en comparaison aux formes non graves (63).

Une expression élevée des ISG dans les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) a été observée chez les patients COVID-19 légers ou asymptomatiques par rapport aux patients COVID-19 graves. Cette expression est probablement liée à une production précoce et importante d'IFN dans les poumons avec une diffusion ensuite dans la circulation sanguine où des taux plasmatiques élevés d'IFN- α sont retrouvés (62,64).

L'expression réduite d'IFN de type I dans le sérum de patients COVID-19 sévères est habituellement associée à des niveaux élevés de cytokines pro-inflammatoires.

Le pouvoir pathogène du SARS-CoV-2 repose principalement sur la capacité du virus à entraver la voie IFN et, à stimuler en parallèle une production élevée de chimiokines et de cytokines pro-inflammatoires, en particulier l'interleukine (IL)-6, suggérant ainsi que le SARS-CoV-2 a développé de multiples mécanismes efficaces pour faire pencher la balance en faveur d'un statut pro-inflammatoire interférant avec la production d'IFN (60).

La gravité de l'infection à SARS-CoV-2 est liée à la latence d'apparition et au taux sérique des IFN de type I. La proposition d'un traitement par interféron de type I a été mise en place. La figure 9 montre qu'une injection précoce d'interféron permettrait un contrôle de la voie inflammatoire par la diminution de cytokines inflammatoires et d'interférons. De même, les symptômes cliniques sont de plus faible intensité.

Cette injection d'interféron doit néanmoins avoir lieu à la phase précoce de la maladie, afin de contrer le mécanisme d'évasion immunitaire. Une administration tardive d'IFN n'a pas d'impact significatif (65).

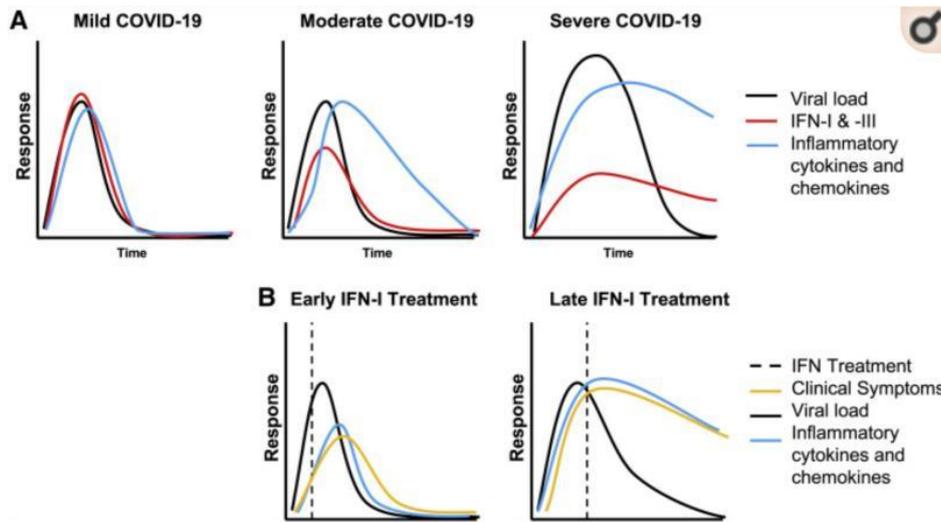


Figure 9 : Impact de la réponse interféron ou du traitement interféron au cours de la COVID-19 (65)

L'abondance du virus dans les alvéoles pulmonaires ainsi que l'infiltration des cellules de l'immunité innée (cellules dendritiques plasmacytoïdes majoritairement) occasionne de manière tardive une importante concentration d'IFN-I, qui n'est plus inhibée par les mécanismes d'échappement viral. Cette concentration génère un recrutement et l'accumulation de monocytes/macrophages, de cellules dendritiques, engendrant une boucle d'amplification de la synthèse d'interféron. Ce mécanisme immunopathologique explique la gravité chez les patients immunodéprimés, comme le présente la figure 10 (57,61).

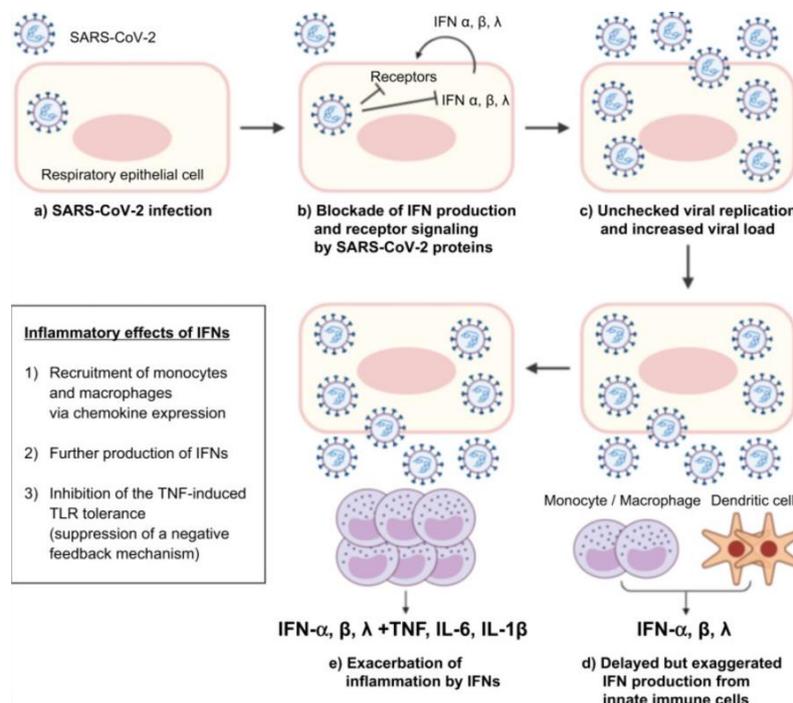


Figure 10 : Mécanisme immunopathologique d'une réponse tardive et importante de synthèse d'interféron concernant les malades graves atteints de COVID-19 (61)

Données sur les interférons de type III au cours de l'infection par le SARS-CoV-2

Des taux sériques plus élevés d'IFN- λ ont été observés chez les patients COVID-19 non graves. Par ailleurs, il a été trouvé que l'IFN- λ était induit de manière robuste et précoce comme les IFN de type I, et indépendamment de la gravité de la COVID-19, en comparaison à des patients avec une grippe non grave. Notamment, des concentrations plus élevées d'IFN- λ chez les patients atteints de COVID-19 étaient corrélées à une charge virale plus faible dans les aspirations bronchiques et à une clairance virale plus rapide et un ratio IFN- λ /IFN de type I plus élevé était corrélé à une meilleure évolution clinique pour les patients gravement malades (66).

Il a été également rapporté une détection de l'IFN- λ dans les voies respiratoires inférieures des patients COVID-19, alors qu'il est absent dans les voies respiratoires supérieures. De plus, dans un modèle Murin, il a été démontré que l'IFN- λ produit par les cellules dendritiques pulmonaires pouvait induire une altération de la barrière épithéliale pulmonaire, provoquant une susceptibilité aux surinfections bactériennes mortelles. Toutefois l'administration précoce d'IFN- λ dans un modèle Murin de COVID-19 pourrait conférer une protection, contrairement à une exposition chronique (67).

Un essai de phase 2 randomisé contre placebo a évalué l'utilisation du peginterféron lambda pour le traitement des patients ambulatoires atteints de COVID-19, et a montré une accélération de la clairance virale à J7, en particulier chez les patients dont la charge virale initiale était élevée. Une administration précoce de peginterféron lambda pourrait donc prévenir la détérioration clinique et raccourcir la durée de l'excrétion virale (68).

Cytokines et chimiokines

Production et activité

Les mêmes PRR impliqués dans la production des interférons, et notamment les TLR peuvent également engager des voies de signalisation aboutissant à la production de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires. Contrairement à la voie de synthèse d'interférons, cette signalisation entraîne l'activation du facteur transcriptionnel NF κ B qui après migration vers le noyau de la cellule, va induire la synthèse des cytokines et chimiokines pro-inflammatoires (69).

Par ailleurs, des récepteurs de la famille des NLR (NOD-like receptors) peuvent entraîner l'activation de l'inflammasome NLRP3. Le NLRP3, par le biais de la

protéase caspase 1, clive la pro-IL-1 β et la pro-IL-18. Il permet la sécrétion d'IL-1 β et IL-18, cytokines pro-inflammatoires (70).

Données sur les cytokines chez les patients COVID-19

L'infection à SARS-CoV-2 peut entraîner une surexcitation du système immunitaire avec une libération massive de cytokines pro-inflammatoires. Ce phénomène, connu sous le nom d'orage cytokinique, commence par une réponse inflammatoire localisée avec ensuite une propagation systémique, et une amplification du recrutement de cellules immunitaires dans les tissus infectés. Plusieurs cellules du système immunitaire, à savoir les cellules B, les cellules T, les cellules NK, les macrophages, les DC, les neutrophiles, les monocytes, ainsi que cellules épithéliales et endothéliales, contribuent à l'orage cytokinique au cours de COVID-19.

Les patients infectés par le SRAS-CoV-2, en comparaison aux contrôles sains, présentent des taux plasmatiques élevés de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (telles que l'IL-1 β , l'antagoniste du récepteur de l'IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, le TNF- α , l'IFN- γ , le GM-CSF, le G-CSF, le PDGF...), ainsi que de plusieurs chimiokines (comme le CCL2, CCL3, CCL4, CXCL10, CCL8, CXCL2, CXCL8, CXCL9, CXCL16...).

La figure 11 présente un panorama des cytokines et chimiokines produites au cours de l'infection par le SARS-CoV-2.

Par ailleurs, une corrélation avec la gravité de l'infection et la concentration sérique a été rapportée pour plusieurs cytokines et chimiokines (IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, TNF- α , G-CSF, CCL2, CCL3, CXCL8 et CXCL10).

En dehors de la gravité de la maladie, la persistance de taux plasmatiques élevés d'IL-6, IL-10 et TNF- α a été associée à une moins bonne récupération de la COVID-19, et une altération de la réponse cellulaire T.

Chez les patients COVID-19 sévères, le taux plasmatique d'IL-6 est particulièrement corrélé à la charge virale et aux altérations pulmonaires (71). Son élévation est considérée comme le marqueur pronostique le plus robuste de mortalité indépendamment des comorbidités. Une autoamplification peut résulter de la voie de TH17. IL6 active cette voie et lors de sa surexpression, elle délivrera de l'IL6 à son tour. L'IL1 β et le TNF α augmentent la concentration de l'IL6 (72).

Le profil cytokinique dans le LBA, et les données issues des biopsies confirment également cette notion d'orage cytokinique.

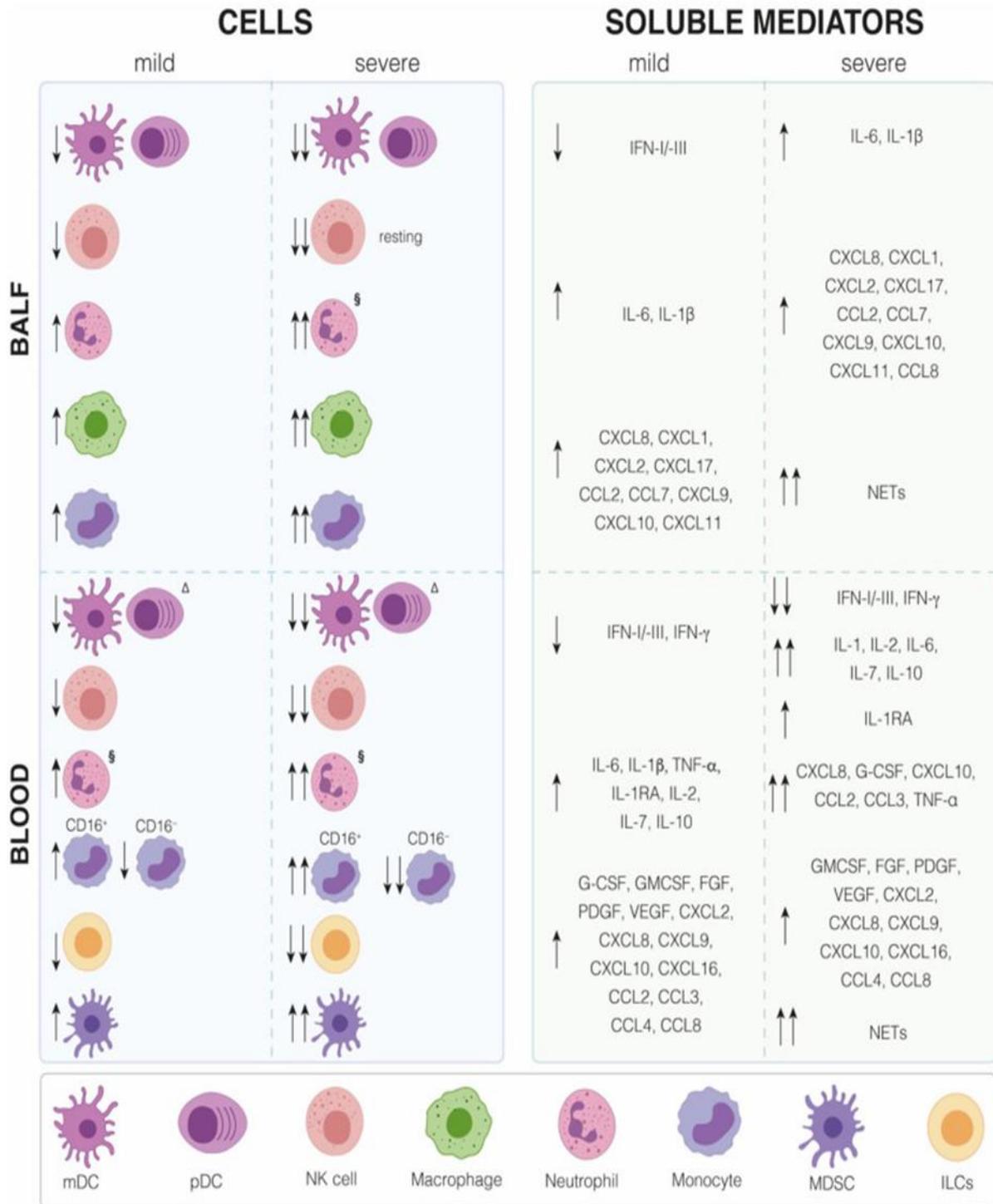


Figure 11 : Cytokines et chimiokines produites au cours de l'infection par le SARS-CoV-2 (60)

Le système complément

SARS-CoV-2 et cascade du complément

Le système complément fait partie d'une des nombreuses défenses de l'immunité innée. Il existe 3 voies principales pour l'activation du complément qui sont indépendantes, mais qui se chevauchent : les voies classiques et alternes et la voie des lectines (Figure 12). Ces 3 voies clivent des zymogènes en cascade par le biais

d'une C3 convertase et une C5 convertase, avec pour finalité la formation du complexe d'attaque membranaire (CAM) et la libération des anaphylatoxines. Le virus peut activer le complément par l'interaction entre la protéine de nucléocapside N et MASP2. Cette liaison active majoritairement la voie des lectines. La voie alterne sera préférentiellement stimulée par la protéine spike du SARS-CoV-2 (73,74).

Le système du complément se situe à l'interface entre l'immunité innée et adaptative. Il permet d'éliminer efficacement les virus via plusieurs mécanismes :

- L'opsonisation des virus et des cellules infectées (y compris en les lysant)
- L'induction d'un état immuno-inflammatoire antiviral, en stimulant les réponses immunitaires spécifiques au virus
- La neutralisation directe des virus

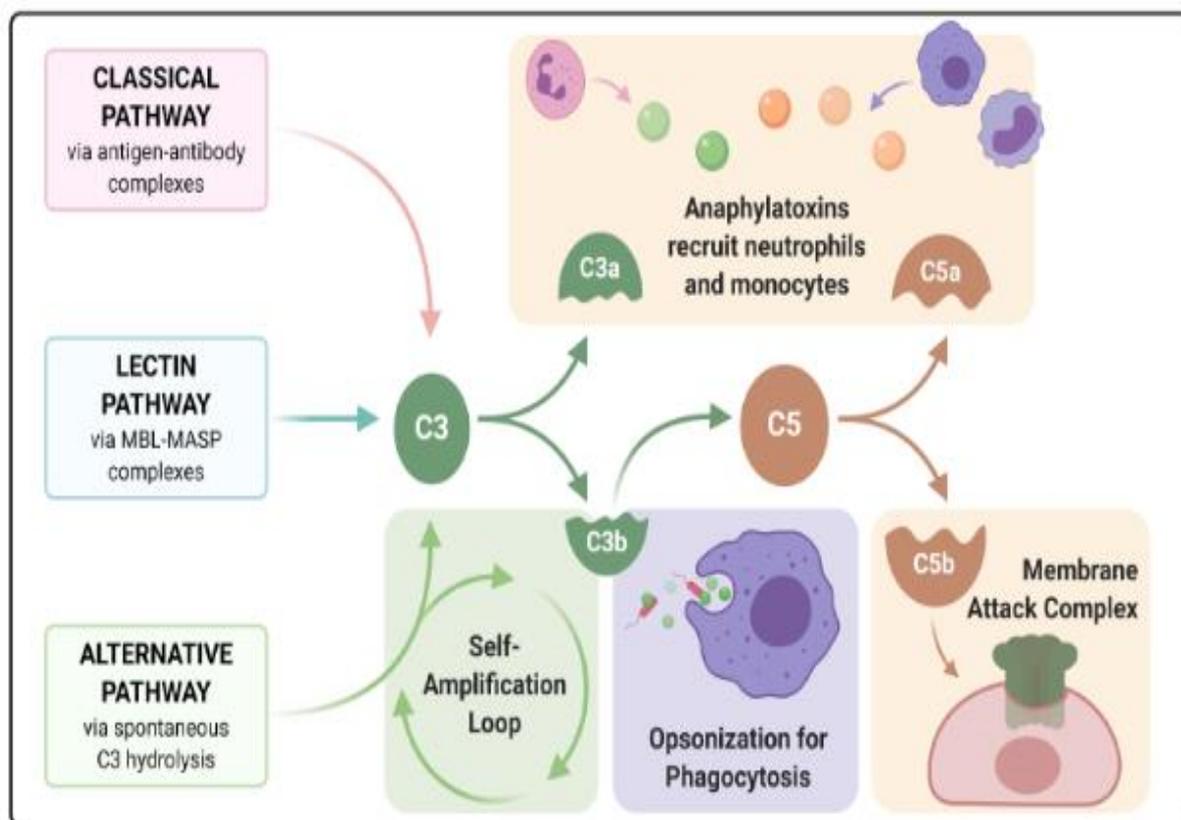


Figure 12 : Voies d'activations du système complément (75)

Données sur le complément chez les patients COVID-19

Plusieurs données clinico-biologiques sont en faveur d'une hyperactivation du complément chez les patients COVID-19.

Chez le patient gravissime, une suractivation des voies du complément a été mise en évidence. L'élévation des facteurs B, C3a, C5a et des facteurs composant le CAM

(C5b-9) sont corrélés à la gravité clinique et apparaissent à un stade tardif de la maladie. Le taux important de C3a, se traduit par une consommation de C3 et la chute de sa concentration dans le sang périphérique. Chaque diminution de 1 g/L augmente de 7 fois plus le risque de décès. Son augmentation, quant à elle, diminue le risque de mortalité. Le facteur C4 diminue également, montrant l'activation des voies classiques et des lectines dans les cas de COVID-19 grave. Un autre marqueur utilisé correspond à l'élévation des niveaux de C4d et de sC5b-9, qui sont associés au développement d'une insuffisance respiratoire. La variation de ces marqueurs paraît indépendante des différentes comorbidités et des complications retrouvées dans la COVID-19 (76,77).

Par ailleurs, en dehors des marqueurs solubles, des dépôts de fragments de complément ont été observés dans plusieurs organes chez des patients atteints de COVID-19, comme par exemple dans des lésions pulmonaires ou cutanées. De même, des anomalies endothéliales observées dans de nombreux organes, notamment les reins, les poumons, le cœur, l'intestin grêle et le foie, ont été également associées à l'activation du complément.

L'état d'hypercoagulabilité observée dans les infections sévères par le SRAS-CoV-2 contribue probablement à la lésion endothéliale et à l'activation du complément. Cette hypercoagulabilité est différente de la CIVD. Les caractéristiques de cet état incluent : un TP normal mais un TCA et un taux de fibrinogène élevés, une numération plaquettaire normale ou augmentée, un taux d'antithrombine proche de la normale et une augmentation de la protéine C et du facteur VIII.

Plusieurs mécanismes peuvent expliquer les lésions médiées par le complément au cours de la COVID-19 : l'activation des neutrophiles et l'induction de NETs, l'hypercoagulabilité et l'hyperinflammation (orage cytokinique). Ils sont résumés sur la figure 13.

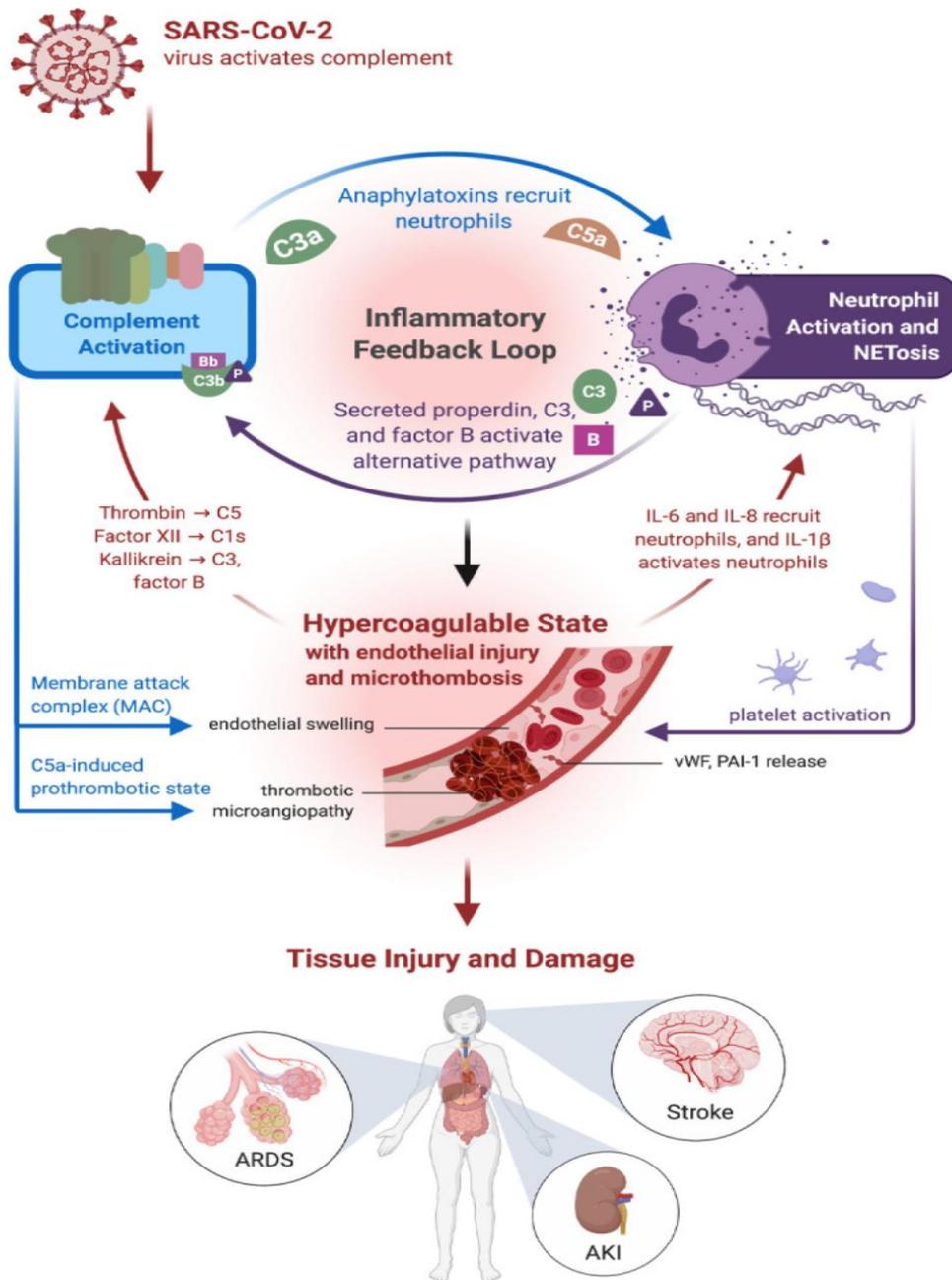


Figure 13 : Boucle d'inflammation médiée par l'activation exacerbée du complément par le SARS-CoV-2 (75)

Acteurs cellulaires

Plusieurs types cellulaires sont impliqués dans la réponse innée vis-à-vis du SARS-CoV-2. Le système immunitaire inné est activé par les cellules résidentes dans les tissus infectés comme par exemple les cellules épithéliales, les cellules et les macrophages alvéolaires. La première réaction de l'organisme est de lutter contre la propagation du virus. La libération de cytokines, chimiokines permet le recrutement de neutrophiles, monocytes, macrophages, cellules dendritiques et des lymphocytes

NK issus de la circulation sanguine. Cette réaction cellulaire a pour objectif l'élimination du virus avant sa propagation (60).

Monocytes/Macrophages

Les monocytes et macrophages sont des acteurs majeurs du système immunitaire inné notamment grâce à la reconnaissance du virus via leurs récepteurs ACE2, ou la synthèse de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires. Lors du SDRA, un syndrome d'activation des macrophages est retrouvé de manière systématique. Dans la circulation, cette activation est marquée par un phénotype majoritaire double positif CD14+/CD16+. Ce phénotype est un profil dit inflammatoire des monocytes/macrophages, et augmente en proportion en fonction de la gravité de la maladie. Ils permettent la synthèse d'IL6, de TNF- α et d'IL10. D'autres marqueurs, comme par exemple la diminution d'expression d'HLA-DR, ainsi que l'augmentation du marqueur PD1, attestent une altération de la présentation de l'antigène et d'un dysfonctionnement de la réponse immune. Dans le LBA, la concentration en macrophages est augmentée chez les patients graves. Le profil d'expression génétique est en faveur d'un phénotype M1, comportant un rôle inflammatoire puissant par la production exacerbée de cytokines/chimiokines. Au contraire, chez les patients modérés, une augmentation du phénotype M2 est mise en évidence, marquée par une action réparatrice (60).

Cellules dendritiques

Les cellules dendritiques sont des cellules présentatrices d'antigènes (CPA) professionnelles, capables d'avoir une activité sur le versant inné et adaptatif du système immunitaire. Elles sont attirées lors de la présence du virus, et permettent la synthèse d'IFN de type I et III. Dans les poumons, divers sous-types de cellules dendritiques sont présents. Parmi ceux-ci, les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC) subissent le plus de modifications lors d'une infection grave à COVID-19. Dans le LBA et le sang, le taux de pDC diminue, réduisant la synthèse d'interféron de type 1, notamment l'IFN- α . Le phénotype correspondant aux pDC synthétisant les IFN de type 1 est représenté par les marqueurs PDL1+ et CD80-, et est augmenté chez les patients asymptomatiques. Au contraire, chez les patients sévères, ce phénotype diminue au profit d'un phénotype PDL1+ CD80+. Ces variations justifient le déficit de synthèse d'IFN en cas de symptomatologie grave (60).

Lymphocytes Natural Killer (LNK)

Les LNK comportent un rôle de reconnaissance et de destruction des cellules infectées par le virus, par le biais de perforines/granzymes ou par cytotoxicité à

médiation cellulaire dépendante des anticorps. Ils ont également un rôle d'immunomodulation de l'inflammation et ce rôle est provoqué par un virus, limitant les dommages causés par celui-ci. Parmi les sous-types de LNK, le phénotype CD56dim CD16+ présente une activité cytolytique puissante ainsi qu'une expression majorée des récepteurs de type KIR. Chez les patients graves, il est observé une diminution du taux de LNK CD56dim CD16+ KIR+. Ce déficit altère la réponse cytotoxique des LNK. En plus du défaut quantitatif de LNK, il existe également une altération fonctionnelle, représentée par l'augmentation du récepteur inhibiteur principal des LNK : NKG2A. De plus, les marqueurs d'activation (CD107a, INF γ , IL2 et TNF α) sont diminués. L'altération fonctionnelle et quantitative des LNK est inversement corrélée à la concentration d'IL6 (60).

Polynucléaires neutrophiles (PNN)

Les PNN sont recrutés sur le site d'infection lors de la réponse innée, par libération de chimiokines par les cellules résidentes du système immunitaire. La migration ainsi que l'infiltration des PNN engendre une réponse inflammatoire locale forte et une apparition de lésions tissulaires irréversibles. Les PNN sont présents en grande quantité dans le LBA contrairement aux lymphocytes. Le ratio PNN/lymphocytes permet d'avoir un marqueur d'inflammation. L'inflammation provoquée par les PNN est due à divers phénomènes : la formation de dérivés réactifs de l'oxygène, la dégranulation des PNN et enfin le phénomène de NETose. Ce dernier est constitué de fibres d'ADN extracellulaire, d'histones, de protéines microbicides et de protéases. Il permet de détruire, dans un environnement physiologique, les bactéries mais aussi les virus. Malheureusement, en cas de SARS-CoV-2, cette exacerbation de NETose induit une inflammation majorée dans le LBA ainsi que des phénomènes de thromboses décrites précédemment (60).

La figure 14 présente les acteurs cellulaires, le recrutement de cellules de l'immunité innée ainsi que les mécanismes inflammatoires présents dans l'alvéole pulmonaire lors d'une réaction exacerbée au SARS-CoV-2.

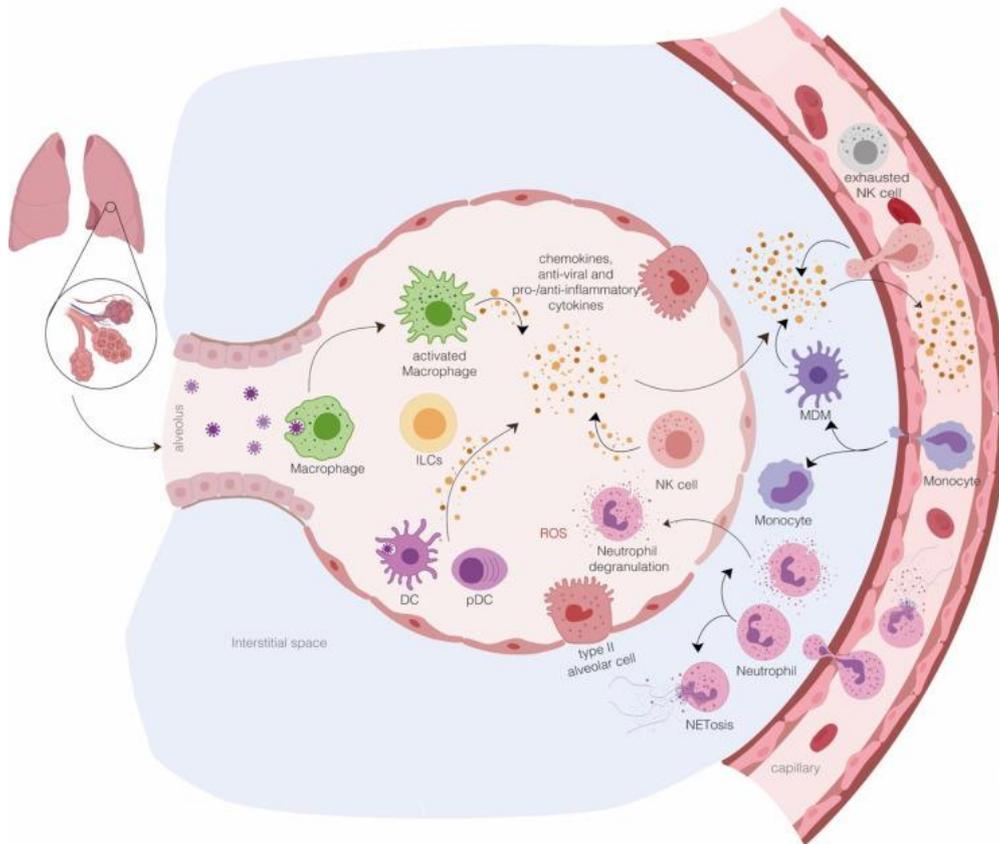


Figure 14 : Représentation de la réponse immunitaire innée dans une alvéole pulmonaire (60)

Échappement du système immunitaire par le SARS-CoV-2.

Le processus d'évasion du système immunitaire par le SARS-CoV-2 permet la réplication précoce et rapide du virus, ainsi que l'induction d'une inflammation qui participe à la gravité clinique.

La première étape d'échappement consiste en la non-reconnaissance par les PRR. Différents mécanismes sont mis en place : la réplication du virus dans une double membrane, ou la synthèse d'une coiffe sur l'ARN par le nsp14 afin d'échapper à l'identification par les RLRs. Nsp16 utilise le même mécanisme que nsp14, vis-à-vis du récepteur MDA5. Ces mécanismes sont retrouvés dans le SARS-CoV et le MERS-CoV. La proximité génétique de nsp16 entre le SARS-CoV et le SARS-CoV-2 fait émettre l'hypothèse d'une réaction semblable (78).

Le SARS-CoV-2 entrave également la voie de signalisation et de production des interférons. Les protéines non structurales ainsi que les ORF du virus permettent d'initier cette évasion. Elle s'accomplit à différents niveaux :

- Les nsp6 et nsp13 empêchent la phosphorylation, respectivement, de TBK1 et IRF3. ORF9b, nsp13, nsp1 et la protéine M ciblent quant à eux les récepteurs RIG-I et MDA-5 (60).
- La protéine ORF6 limite la signalisation et la production d'interférons. La queue protéique d'ORF6 interagissant avec des constituants de pores nucléaires est décrite comme le mécanisme d'inhibition. Ce lien empêcherait la translocation nucléaire d'IRF3 et STAT1. Ce blocage peut-être établi par ORF3b ou la dégradation de TBK1 par la protéine M (60,79).
- Nsp1, nsp6, nsp13, ORF3a, ORF7b et la protéine M bloquent la phosphorylation de STAT1, Nsp6, nsp13, ORF7a et ORF7b la phosphorylation de STAT2 (80).
- Enfin plus tardivement dans la voie de signalisation, ORF6/ORF8 et nsp1 entravent la transcription d'ISRE des ISG. La protéase papaine quant à elle inhibe la phosphorylation d'IRF3 et par clivage de l'ISG (60).

En résumé, les différents mécanismes d'échappement du système immunitaire freinent la synthèse d'interférons permettant d'obtenir une réplication précoce et importante du virus. Plus tardivement, la charge virale importante induit une réaction inflammatoire disproportionnée.

Tableau 5 : Mécanismes d'évasion immunitaire utilisée par le SARS-CoV-2. Les textes indiqués en gras sont les mécanismes d'actions qui n'ont pas encore été prouvé sur le SARS-CoV-2 (65)

Protéines	Mécanismes d'évasions
Nsp1	Inhibition de la production d'INF β
Nsp3	Inhibition de la signalisation IRF3 et NF$\kappa$$\beta$ par la protéase papain-like
Nsp6	Antagonisme de TBK1 : inhibition de la phosphorylation de IRF3 et STAT1.
Nsp12	Inhibition de la production d'INF β
Nsp13	Inhibition de la production d'INF β par inhibition de la phosphorylation de STAT1 et STAT2
Nsp14	Activité de la N-méthyltransferase impliquée dans le coiffage de l'ARN pour échapper aux PRR
Nsp15	Dégradation par une endonucléase de l'ARN viral pour échapper à la détection des PRR
Nsp16	Activité de la 2'O-méthyltransferase impliqué dans le coiffage de l'ARN pour échapper aux PRR
S	Inhibition de la production d'INF β
M	Inhibition de la signalisation des PRR, de l'activation des promoteurs de l'INF β , du NF κ β et de la phosphorylation STAT1
N	Inhibition de la production d'ISG
ORF3a	Inhibition de la production d'INF β par inhibition de la phosphorylation de STAT1
ORF3b	Inhibition de la production d'INF β
ORF6	Inhibition de la translocation nucléaire de STAT1 et IRF3 par inhibition du complexe NUP98/RAE1
ORF7a	Inhibition de la phosphorylation de STAT2
ORF7b	Inhibition de la phosphorylation de STAT1 et STAT2
ORF8	Inhibition de la translocation nucléaire de IRF3 et de la production d'ISG
ORF9b	Perturbation de la voie de signalisation MAVS

Réponse immunitaire adaptative vis-à-vis du SARS-CoV-2

La réponse immunitaire adaptative ou spécifique vis-à-vis du virus complète la réponse innée avec pour but le contrôle de l'infection virale. Cette immunité se décline classiquement en deux grandes voies : l'immunité à médiation cellulaire impliquant comme principaux effecteurs les lymphocytes T et permettant d'éliminer les cellules infectées, et l'immunité à médiation humorale dont la finalité est la production d'anticorps spécifiques

Immunité à médiation cellulaire

Après avoir décrit les acteurs et les mécanismes de cette réponse, nous présenterons les données de la littérature chez les patients infectés par le SARS-CoV-2.

Mécanismes de l'immunité à médiation cellulaire

Les lymphocytes T sont considérés comme des acteurs majeurs de la réponse antivirale, du fait de leur capacité à éliminer les cellules infectées. Un rôle prépondérant est notamment attribué aux lymphocytes T CD8+ à action cytotoxique (CTL). Ces CTL sont capables de tuer les cellules infectées par un contact étroit avec celles-ci. Mais plusieurs autres acteurs cellulaires sont importants dans cette réponse, notamment les lymphocytes T CD4+, et les cellules présentatrices d'antigène (CPA).

- Les CPA sont constituées de cellules dendritiques et de macrophages résidents. Après internalisation du virus via le récepteur ACE2, les CPA digèrent le virion sous forme d'antigène et débutent leur migration vers les ganglions lymphatiques pour la présentation du peptide antigénique. Les peptides viraux associés aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) sont présentés au TCR (T-cell receptor) de lymphocytes T. Contrairement aux autres coronavirus hautement pathogènes, les protéines du spicule (S), de la nucléocapside (N) et de la membrane (M) sont présentées selon une même fréquence aux lymphocytes T, associés au CMH-I et au CMH-II (81).

Ainsi, d'une part, les antigènes S, N ou M du SARS-CoV-2 peuvent être associés aux molécules du CMH-I, afin de stimuler la prolifération et l'activation des lymphocytes T CD8 cytotoxiques. D'autre part, les antigènes associés aux molécules du CMH-II vont stimuler des lymphocytes T naïfs ou Th0, et cette présentation

antigénique permet la polarisation des lymphocytes T CD4 helper vers la voie Th1 principalement dans le cas du SARS-CoV-2. Cette activation et cette différenciation des lymphocytes T sont médiées par la présentation de l'antigène, mais aussi grâce à des facteurs de costimulation associés (82). En complément de cette polarisation de la réponse immunitaire, la présentation d'antigène permet une prolifération importante lymphocytaire ainsi que la migration vers le site d'infection (83). Une fois arrivés sur leurs sites d'actions, les lymphocytes T auront différentes fonctions antivirales.

- Les lymphocytes T CD4 (LTCD4) avec une polarisation Th1, ont des propriétés effectrices antivirales via la sécrétion d'INF γ , de TNF α et d'IL2. Ils seraient également capables d'activer la réponse des CTL. Leur action antivirale peut être réalisée d'une façon directe via des LTCD4 cytotoxiques. Ce sont des lymphocytes capables de sécréter des perforines et granzymes afin de détruire les cellules infectées par le virus. Néanmoins, ils semblent peu actifs comme le montre la mise en évidence d'un faible taux du marqueur CD107a. Enfin, les LTCD4 cytotoxiques ont une fonction de réparation du tissu pulmonaire par la sécrétion d'IL-22 (84).

- Les lymphocytes TCD8 cytotoxiques (CTL) sont activés selon deux voies : par présentation d'antigène via les CPA et l'interaction CMH-I/Ag/TCR, ou directement par les cellules épithéliales infectées par le virus. Cette interaction permet la libération de protéines perforines et granzymes B. Ces protéines ont une action lytique contre les cellules infectées par le virus. Tout comme les LT CD4, les CTL subissent majoritairement l'apoptose, ou se différencieront en LT CD8 mémoire.

Données d'immunité cellulaire chez les patients infectés par le SARS-CoV-2

Plusieurs données en lien avec l'immunité cellulaire ont été décrites chez les patients COVID-19.

Lymphocytes T

Les lymphocytes T CD4 et CD8 sont des acteurs clés de l'immunité cellulaire. L'étude de leur nombre, de leur cinétique, et de leur phénotype a fait l'objet de nombreuses publications.

Une lymphopénie des deux lignées est habituellement retrouvée chez les patients COVID-19. Cette lymphopénie est plus importante chez les patients avec des formes sévères. Les raisons de cette cytopénie ne sont pas totalement élucidées à ce jour. Néanmoins, des hypothèses ont été proposées. Ainsi, la présence du récepteur

ACE2 sur les lymphocytes T pourrait permettre l'entrée du virus dans la cellule, avec l'induction d'un dysfonctionnement des LT, aboutissant à leur apoptose. De plus, le taux de LT est inversement proportionnel à la quantité de cytokines pro-inflammatoires présentes dans le milieu. Enfin, la destruction d'organes lymphoïdes secondaires (rate, ganglions lymphatiques) et le taux élevé d'acide lactique pourraient entraver la production de lymphocytes T majorant la cytopénie (85).

Une présence importante de LT CD4 et CD8 au site d'infection a été corrélée à une maladie moins grave, contrairement aux anticorps neutralisants (84).

La cinétique des LT au cours de la COVID-19 montre une réponse faible et retardée au cours des formes graves (voir Figure 15) (84).

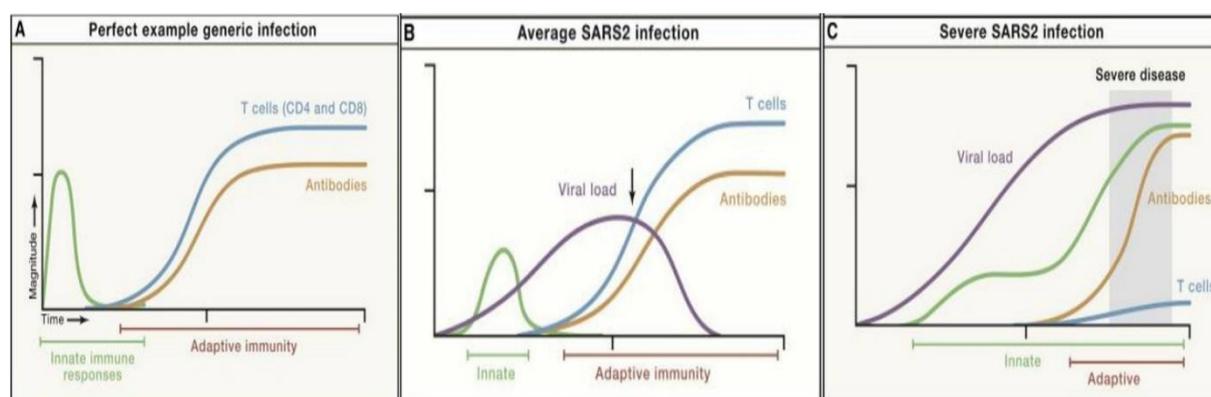


Figure 15 : Cinétique de la charge virale, des réponses immunitaires innées et adaptatives dans le cadre d'une infection normale (A), modérée (B) et sévère (C) à SARS-CoV-2 (84)

Les LT CD8 sont davantage touchés comparativement aux LT CD4. La diminution plus marquée des CD8 est appréciée par le calcul du ratio CD4/CD8, augmenté chez les patients graves (86).

Les marqueurs membranaires mis en évidence par cytométrie de flux indiquent une suractivation de ces lymphocytes et/ou des marqueurs d'épuisement. Une augmentation des LTCD4 et LTCD8 exprimant les marqueurs d'activation CD38+ HLA-DR+, a été détectée chez les patients convalescents après une maladie grave (86,87).

Le profil phénotypique des lymphocytes circulants au cours de la COVID-19, ainsi que l'état d'activation et d'épuisement des différents types de cellules sont résumés dans le tableau 6 :

Tableau 6 : Résumé des caractéristiques phénotypiques, variations et commentaires des lymphocytes circulants dosés dans le COVID-19 sévère (85,88)

Cellules	Phénotypes	Variations	Commentaire(s)
Lymphocytes TCD4	Ki67, CD38, HLA-DR CD44, CD69, OX40	Diminution du taux de LTCD4 en périphérie, augmentation de l'expression des marqueurs membranaires	Lymphopénie périphérique avec suractivation des lymphocytes présents dans la circulation
	PD1+, TIM-3+		Augmentation d'expression des marqueurs d'épuisements cellulaires en réponse à l'infection virale.
Lymphocytes TCD8	Ki67, CD38, HLA-DR CD44, CD69, CD28 NKG2A	Diminution du taux de LTCD8 en périphérie, augmentation de l'expression des marqueurs membranaires	Lymphopénie périphérique avec suractivation des lymphocytes présents dans la circulation.
	PD1+, TIM-3+		Augmentation d'expression des marqueurs d'épuisements cellulaires en réponse à l'infection virale
	PD1- CTLA-4- TIGIT-	Diminution du taux périphérique	Diminution des cellules TCD8 non épuisé, en accord avec l'augmentation des LTCD8 PD1+ TIM3+
	CD107a + INFγ + ou Granzyme B +		CD107a, INFγ et le Granzyme B sont des marqueurs d'activités des LTCD8, abaissé dans un stade précoce de la maladie. C'est un marqueur d'épuisement des LTCD8 en complément de la diminution du taux d'INFγ chez les LTCD4.
Lymphocytes T auxiliaires naïf	CD3, CD4, CD45RO	Diminution dans la circulation générale dans les cas sévères	Altération de la réponse immunitaire par défaut d'activation de LT naïf

Cytokines

Plusieurs études ont évalué les cytokines liées à l'immunité cellulaire au cours de l'infection par le SARS-CoV-2

De nombreuses cytokines ont été détectées dans le sang périphérique des patients, avec une majorité synthétisée par la voie Th1 (INF γ , TNF- α , IL-2), mais aussi des cytokines effectrices (IL5, IL9, IL10, IL13, IL17 et IL22). Malgré cette sécrétion, les LT CD4 multifonctionnels sécrétant au moins deux des cytokines INF γ , TNF- α , IL-2 étaient diminués dans les cas graves (87,88).

Les cellules T interviennent dans la clairance virale, mais elles peuvent être à l'origine d'une immunopathologie en potentialisant l'effet inflammatoire. Divers mécanismes ont été mis en évidence, avec l'augmentation de T CD4 polyclonales GM-CSF+. Le GM-CSF entraîne une inflammation pulmonaire induite par les cellules T ainsi qu'une auto-amplification de la réponse cytokinique. Cette induction inflammatoire intra-alvéolaire permet le recrutement de monocytes/macrophages, majorant encore l'hyperinflammation induite par les cytokines. Le taux de lymphocytes GM-CSF + est quantitativement proportionnel à la gravité de la maladie. Cette molécule est un lien entre l'induction d'inflammation par les LTCD4 par sécrétion d'INF γ et la libération d'IL6 par les macrophages (83).

Bien que la réponse Th1 soit majoritaire, des cytokines provenant de Th17 ont été retrouvées. Cette lignée synthétise de l'IL17, recrutant des monocyte/macrophage, et PNN provenant de la circulation. Ce recrutement induit la libération d'IL1 β et d'IL6 responsables de l'emballement de la réaction inflammatoire (89). Comme dans l'immunité innée, ces cytokines ont de larges propriétés inflammatoires et participent à l'orage cytokinique. Enfin, les lymphocytes Treg et des LT $\gamma\delta$ sont diminuées chez les patients gravement malades. Ces deux sous-types de populations lymphocytaires permettent respectivement de résoudre l'inflammation et d'avoir des propriétés antivirales. Leur diminution pourrait entretenir l'inflammation déjà intense de l'orage cytokinique (90).

Immunité humorale

Le second versant de l'immunité adaptative est le versant humoral, médié par les lymphocytes B. Au contraire de l'action de clairance virale intracellulaire des LT, les LB sécrètent des anticorps capables de neutraliser le virus en extracellulaire.

Initiation de la réponse immunitaire humorale

La réponse est initiée au niveau des muqueuses aériennes par une interaction entre les lymphocytes B naïfs et l'antigène viral. Cette interaction permet l'activation des lymphocytes B. Ces lymphocytes vont ensuite être engagés dans deux voies distinctes (91) :

- Une voie extrafolliculaire comportant une reconnaissance directe par les LB via le BCR sans intervention des lymphocytes T. Cette voie est rapide, avec une action locale. Deux types de cellules sont générés : les LB mémoire et les plasmablastes ou plasmocytes extrafolliculaire. Cette voie comporte un faible taux d'hypermutation somatique, limitant la diversité génétique des anticorps produits par le lymphocyte, avec dans un premier temps, la synthèse des IgM qui est favorisée. A la fin de la voie extrafolliculaire, les plasmablastes à courte durée de vie sont remplacés par des centres germinaux folliculaires excrétant majoritairement des anticorps de type IgG et IgA (92).
- Une voie folliculaire avec des LB, qui une fois activées, migrent vers les centres germinatifs ou organes lymphoïdes secondaires. Deux types de cellules sont également générés : LB mémoire circulants et plasmocytes folliculaires à longue durée de vie. Cette voie comporte une présentation de l'antigène par les lymphocytes T CD4, permettant une boucle d'hypermutation somatique. Ce phénomène permet d'augmenter la spécificité et l'affinité des anticorps produits par le LB. Plus l'infection progresse, plus les LB seront affins par rapport à l'antigène. Grâce à la commutation de classe, des IgG et IgA sont produites en majorité (92,93).

Ces différentes voies permettent d'expliquer l'apparition dans certain cas d'IgG et d'IgA en même temps que les IgM, via les plasmablastes de la voie extra folliculaire. Malgré la lymphopénie, notamment la diminution de lymphocytes B au début de la maladie, une fréquence élevée de plasmablastes est retrouvée. La régression survient après 3 à 6 mois de convalescence (91).

Cinétique et caractéristiques des anticorps

De nombreuses études ont étudié la cinétique des anticorps au cours de l'infection par le SARS-CoV-2. Dans l'étude d'Yver and al, l'apparition des IgG a été observée chez 92% des patients durant les 14 premiers jours post infection. Le temps médian de séroconversion est estimé entre 10 et 12 jours, et est comparable pour tous les isotypes. Le pic des IgM/IgA apparues simultanément, précède d'une semaine le pic des IgG. La concentration des différents isotypes diminue après le pic avec un délai médian de séroréversion de 48.9 jours et 70.5 jours pour, respectivement, les IgM et IgA (94). L'étude de cinétique de Röltgen et al a montré une négativation des IgA et IgM à 12 semaines post-symptômes. La décroissance des IgG est plus lente et progressive.

Les taux d'anticorps anti-RBD sont corrélés à la gravité de la clinique. Les patients de réanimation présentent une réaction significativement plus robuste et constante comparativement aux patients « modérés » qui présentent des titres faibles d'anticorps et avec un déclin plus rapide (95). Cette corrélation est confirmée dans l'étude de Bo Hansen et al, qui a montré un maintien de taux importants d'anticorps à 11 semaines post-infection chez les patients graves. Les concentrations des trois isotypes d'anticorps sont restées stables durant cette période. Il a été également retrouvé une corrélation positive entre les taux d'anticorps et l'âge qui s'explique par la gravité exacerbée de la pathologie chez les personnes âgées (96).

L'efficacité des anticorps sur la prévention de l'infection est liée à leur pouvoir neutralisant. Les anticorps neutralisants (AN) se lient au virion pour empêcher la liaison ou fusion du virus avec la cellule cible entraînant sa neutralisation (97). La glycoprotéine spike du SARS-CoV-2 est la cible des anticorps neutralisants dont plus de 90% ciblent le domaine RBD et le domaine NTD. Cela empêche la liaison RBD/ACE2. La similitude de séquence des protéines S entre le SARS-CoV et le SARS-CoV-2 laisse présager une protection croisée avec les anticorps présentant l'activité neutralisante la plus importante (84). Les AN permettent également l'opsonisation des virus libres ainsi que des cellules infectées par le virus. Ceci permettra la phagocytose via les macrophages. Par ailleurs, les AN favorisent la liaison du fragment Fc à C1q, activant la voie classique du complément. Ce phénomène induit la synthèse de C3, C3a et de C5a dont les rôles ont été décrits précédemment (98). Enfin, les anticorps peuvent recruter des cellules effectrices permettant d'induire l'apoptose de la cellule infectée : c'est la cytotoxicité dépendante des anticorps, avec la reconnaissance du complexe IgG/protéines virales par les cellules NK.

Une activité neutralisante assez variable a été observée sur une cohorte de 963 patients, dont 94,4% avaient présenté une séroconversion anti-N et/ou anti-S. Les non-répondeurs étaient principalement des patients asymptomatiques. L'activité neutralisante est également assez variable sur les différents variants du SARS-CoV-2 (99). L'apparition des AN est plus tardive chez les patients graves comparativement aux patients légers. Le délai d'apparition se situe entre 6 à 15 jours après les symptômes et les AN persisteraient avec une demi-vie d'environ 3.6 mois. Un délai de 14 jours est proposé pour classer les patients graves/non graves (100). Cette perte précoce de l'activité neutralisante serait due à la perte des IgM et IgA, impliquées avec les IgG dans la neutralisation du virus. Les AN sont détectées chez

40 à 70% des personnes infectées, dont 15% n'atteignant pas de titres de neutralisation élevé in vitro. Les corrélats de protection ne sont pas actuellement clairement connus (99,101).

Le pouvoir neutralisant des anticorps produits au cours de l'infection par le SARS-CoV-2 a été étudié dans diverses indications chez l'homme : prophylaxie, traitement précoce ou tardif. L'administration de sérum de convalescents a ainsi permis d'atténuer la réplication, de limiter les formes graves et la transmissibilité du virus.

L'efficacité clinique était corrélée au taux d'AN contenu dans le sérum. La gravité clinique, l'âge avancé et le sexe masculin sont les facteurs les plus prédictifs de taux élevés d'AN dans le sérum. En ce qui concerne la symptomatologie, la fièvre, l'agueusie et l'anosmie sont les symptômes les plus associés à une activité neutralisante élevée du sérum (100,102).

L'hypothèse de l'existence d'anticorps facilitants (AF) au cours de la COVID-19 a été évoquée, notamment à cause des taux élevés d'anticorps observés chez les malades sévèrement atteints. A l'inverse des AN, la présence d'AF potentialise l'infection. Ce phénomène connu sous la terminologie de facilitation de l'infection par les anticorps (antibody dependent enhancement ou ADE) est basé sur divers mécanismes, et a été décrit pour plusieurs virus dont le plus connu est le virus de la dengue. Les conséquences d'un tel phénomène pourraient être la gravité de l'infection au cours de la réinfection, ou au cours de l'utilisation thérapeutique des sérums de patients convalescents. A ce jour, il n'existe pas de données démontrant l'existence de l'ADE au cours de la COVID-19 (103).

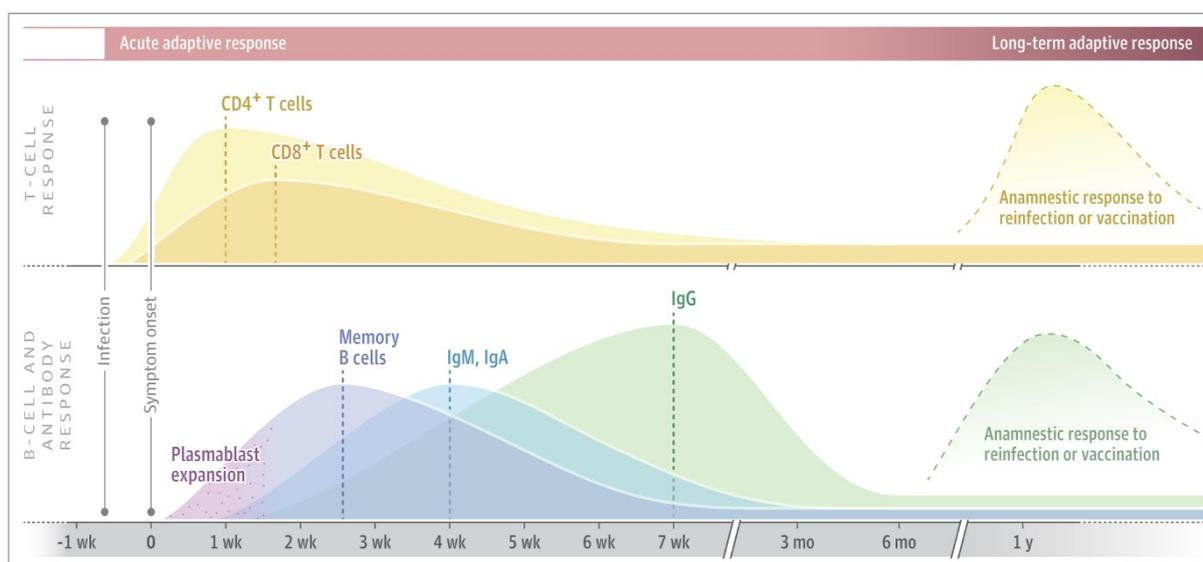


Figure 16 : Cinétique de la réponse immunitaire cellulaire et humorale contre le COVID-19 (104)

Mémoire immunitaire

La voie folliculaire permet d'induire une mémoire immunitaire durable des lymphocytes B et la synthèse d'anticorps affins et spécifiques. Les centres germinaux synthétisent des plasmocytes à longue durée de vie ainsi que des cellules B mémoires permettant une protection immunitaire sur plusieurs années. Au cours de l'infection par le SARS-CoV-2 et les coronavirus en général, l'immunité semble être limitée dans le temps. Une des hypothèses de cette mémoire immunitaire limitée serait une perte de lymphocytes T folliculaires BCL-6+ dans les organes lymphoïdes secondaires. Cette perte empêche l'interaction des lymphocytes T avec les lymphocytes B pour la commutation de classe. Il en résulte une réponse immunitaire non durable, avec une régression quantitative des anticorps IgA, IgM et IgG à long terme. Cela inhibe de ce fait la formation de centres germinatifs. Ces résultats ont un impact concret dans le schéma vaccinal, où la question de rappel annuel doit être posée (105,106).

Néanmoins, l'étude de cohortes a mis en évidence des cellules B mémoire anti-S jusqu'à 6 à 8 mois après l'infection, montrant ainsi une persistance de la réaction immunitaire. Les cellules B mémoire anti-M sont majoritaires au cours du premier mois, mais régressent au profit de cellules B mémoires anti-S, RBD ou anti-N (91).

Méthodes d'évaluation de la réponse antivirale

Recherche d'anticorps anti-SARS-CoV-2

Les tests sérologiques sont des tests permettant la recherche d'anticorps dirigés contre le SARS-CoV-2. Ils peuvent permettre d'identifier une infection d'apparition récente ou ancienne, et de mettre en évidence une immunité post-vaccinale. Ces tests étudient donc le versant adaptatif humoral de la réponse immunitaire en détectant les anticorps anti-SARS-CoV-2 (anticorps totaux ou isotypes IgA, IgM, IgG) (107).

Étant donné la cinétique des anticorps dans l'utilisation des tests sérologiques pour le diagnostic, la sensibilité est limitée au stade précoce, lorsque l'hôte n'a pas encore développé d'anticorps spécifiques.

Les indications diagnostiques des tests sérologiques selon la HAS sont les suivantes (108) :

- Enquêtes séro-épidémiologiques dans le cadre de la surveillance épidémiologique ;
- Diagnostic initial de patients symptomatiques graves hospitalisés, si tableau clinique ou scanographique évocateur et RT-PCR négative ;
- Diagnostic de rattrapage de patients symptomatiques graves hospitalisés mais n'ayant pas été en mesure de réaliser un test RT-PCR avant sept jours ;
- Diagnostic initial de patients symptomatiques sans signes de gravité suivis en ville si tableau clinique évocateur et test RT-PCR négatif ;
- Diagnostic de rattrapage chez des patients symptomatiques avec suspicion clinique sans signes de gravité mais n'ayant pas été en mesure de réaliser un test RT-PCR avant sept jours ;
- Diagnostic étiologique à distance chez des patients symptomatiques sans signes de gravité diagnostiqués cliniquement mais n'ayant pas fait l'objet d'une RT-PCR ;
- Détection d'anticorps chez les professionnels soignants non symptomatiques lors de dépistage et détection de personne-contact par RT-PCR selon recommandations en vigueur après une RT-PCR négative, uniquement à titre individuel sur prescription médicale ;
- Détection d'anticorps chez les personnels d'hébergement collectif non symptomatiques lors de dépistage et détection de personne-contact par RT-PCR selon les recommandations en vigueur après une RT-PCR négative, uniquement à titre individuel sur prescription médicale.

Avec la mise sur le marché des vaccins, les tests sérologiques ont vu s'élargir leurs indications, avec notamment des méthodes quantitatives pour évaluer l'immunité post-vaccination. La corrélation de ces méthodes avec le pouvoir neutralisant est néanmoins importante pour prédire la protection.

Cibles antigéniques

Les tests sérologiques utilisés en routine ciblent différentes structures du SARS-CoV-2. Les cibles antigéniques sont le plus souvent situées au niveau de la protéine

S et parfois spécifiquement au niveau du domaine RBD, et au niveau de la protéine N (109). Avec l'avènement des vaccins qui induisent essentiellement des anticorps anti-S, la positivité des tests anti-N présente l'avantage d'affirmer l'antériorité d'une infection naturelle. Des tests sérologiques futurs ambitionnent de détecter des anticorps dirigés contre des protéines non structurales, comme par exemple ORF8 ou ORF3b. Ceci permet d'augmenter la spécificité, et par l'association avec des protéines structurales, la sensibilité des tests (109).

Malgré le risque évoqué de potentielles réactions croisées entre le Sars-CoV-2, notamment pour les tests sérologiques anti-S, la spécificité de ces tests est très bonne en pratique. La très bonne spécificité de la protéine S a été corroborée par une étude sur les épitopes de la protéine S du SARS-CoV-2 qui a montré que, même en considérant les homologues avec le SARS-CoV-1, le SARS-CoV-2 présente de nouveaux épitopes d'anticorps

Approches techniques

Les tests ELISA et CLIA

La technique ELISA ou méthode immunoenzymatique permet de détecter et/ou de quantifier les anticorps anti-SARS-CoV-2 présents dans le sang. La chimiluminescence (CLIA) repose sur le même principe que l'ELISA, en dehors de la méthode de révélation. Les méthodes ELISA et CLIA sont souvent préférables dans une stratégie de diagnostic à large échelle, permettant des séries plus importantes en moins de temps. La technique par chimiluminescence a pour principaux avantages une excellente sensibilité et un rapport signal/bruit très élevé. Elle détecte de faibles niveaux d'anticorps. Cette technique est entièrement automatisable pour des séries importantes et permet aussi le plus souvent, une utilisation « au coup par coup ». Plusieurs trousseaux commerciaux sont disponibles sur le marché. Les performances dépendent en général de la cible antigénique utilisée, et de l'isotype détecté. Parmi les tests ciblant la protéine S, ceux détectant des anticorps dirigés contre le domaine RBD sont les plus sensibles (109). La protéine N semble être plus sensible que la protéine S, grâce à son abondance dans le virus. Néanmoins, la cinétique des anticorps anti-N montre une cinétique courte (110). Les tests détectant les anticorps totaux sont essentiellement les tests les plus sensibles et spécifiques (110). La détection d'IgG et d'IgM comporte des performances similaires, contrairement aux tests IgA pour lesquels il subsiste une perte de spécificité due à une réaction croisée.

Les caractéristiques et les performances des quelques trousse commerciales de détection qualitative sont résumées dans le tableau 7.

En dehors des tests qualitatifs, plusieurs fournisseurs ont développé des tests quantitatifs anti-S qui peuvent permettre d'évaluer en titres la réponse anticorps post-infection mais surtout post-vaccinale. C'est le cas par exemple du test Anti-SARS-CoV-2 QuantiVac ELISA (IgG), dont le fabricant annonce une sensibilité et une spécificité à respectivement 90.3% et 99.8%. Un coefficient de corrélation à 0,99 a été retrouvé entre cette trousse et une technique de séroneutralisation (111). C'est également le cas du test Liaison SARS-CoV-2 TrimericS IgG assay avec une corrélation de 100% ainsi qu'une sensibilité et une spécificité de respectivement 98.7% et 99.5% à J15 post-exposition.

Tableau 7 : Paramètres et performances des principaux tests sérologiques qualitatifs utilisés dans le cadre de l'infection à SARS-CoV-2

	Isotypes	Cibles	Sensibilité (%)	Délai post-PCR	Spécificité (%)	Références
WANTAI	Ac totaux	RBD	100	> J11	100 (112)	(113)
			98	> J26		(114)
			95-97,6	J16/20 - > J20		(112)
			81,6	> J10		(115)
			97,8	> J14		(116)
			97.6	> J21		(117)
			94	> J10		(118)
ABBOTT	IgG	N	80 - 90	J11/30 - > J31	99.6 (112)	(113)
			95.2 -95,6	J16/20 - > J20		(112)
			95.6	> J14		(116)
			93.5	> J21		(117)
			84.5	> J10		(118)
EURO IMMUN	IgG	S	60 - 100	J11/30 - > J31	99.3 (115)	(113)
			92.98	> J26		(114)
			70.2	> J10		(115)
			95.6	> J14		(116)
			82.9	> J21		(117)

DIASORIN	IgG	S1/S2	60 - 90	J11/30 - > J31	98.5 (112)	(113)
			84	> J26		(114)
			71.4 - 77.8	J16/20 - > J20		(112)
			68,4	> J10		(115)
			87 à 89.4	> J21		(117)
			77.4	> J10		(118)
BIORAD	Ac totaux	N	100 - 95	J11/30 - > J31	99.6% (112)	(113)
			90.5 - 86.7	J16/20 - > J20		(112)

Les tests sérologiques rapides

De nombreux fabricants ont hâtivement développé des tests rapides basés sur un principe immunochromatographique (tests à flux latéral ou LFA). Ces tests permettent, par une goutte de sérum, plasma ou sang total, la recherche d'anticorps anti-SARS-CoV-2 (119). Ces tests présentent souvent une sensibilité plus faible que les méthodes ELISA ou CLIA mais certains démontrent néanmoins une sensibilité proche de 90%. A titre d'exemple de performance, l'évaluation d'un test rapide détectant des IgG et IgM a dans une étude contenant 525 patients, montré une sensibilité et une spécificité de respectivement 89 et 91%. Des études ont montré que la sensibilité des tests LFA peut être liée au profil des patients infectés (supérieure chez les patients symptomatiques hospitalisés par rapport aux patients asymptomatiques). Ces tests présentent également l'avantage de la simplicité et d'un résultat rapide (en 15 min). Les limites de cette technique sont une sensibilité limitée durant la phase aiguë de la maladie (commun à tous les tests sérologiques du marché) ainsi que des résultats uniquement qualitatifs (109).

La figure 17 compare les tests rapides aux tests ELISA et CLIA.

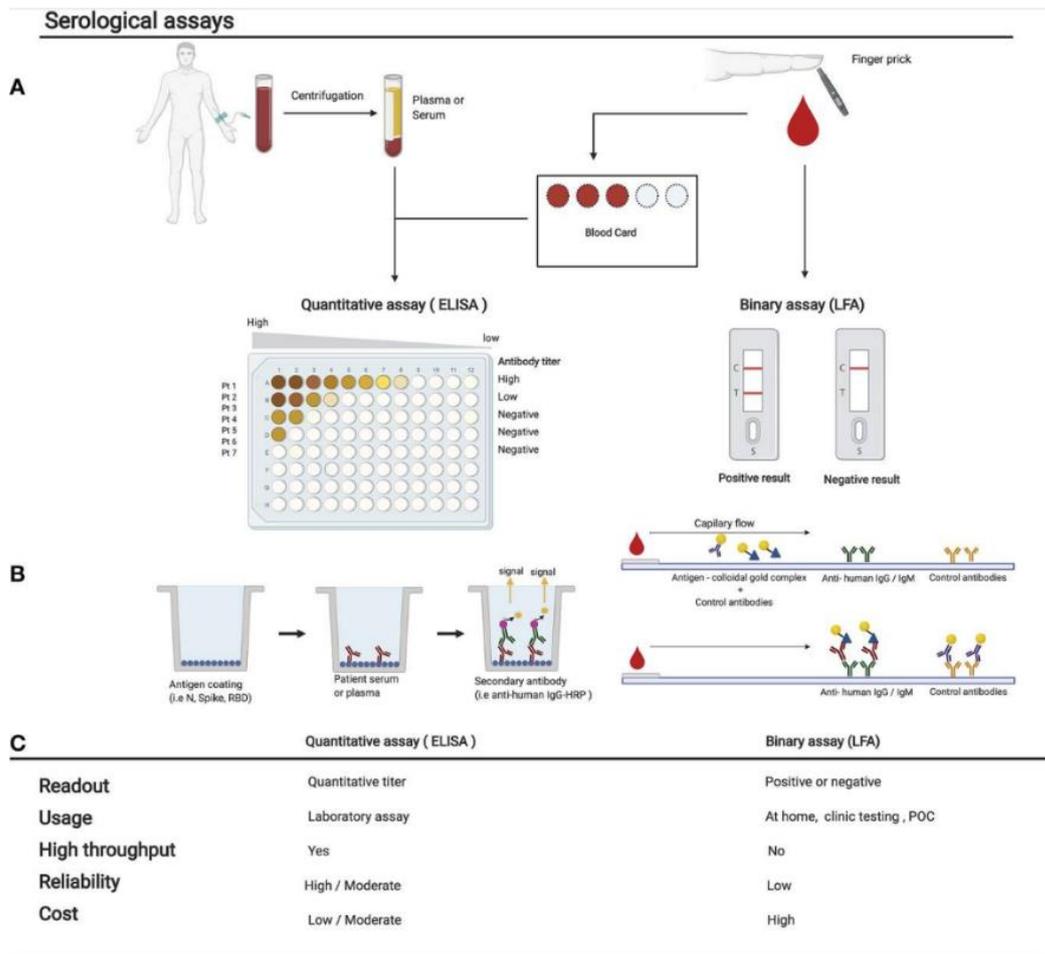


Figure 17 : Schéma des techniques ELISA et TDR dans le cadre d'infection à SARS-CoV-2 (120)

Recherche des anticorps neutralisants

La finalité d'une réponse anticorps est la capacité à neutraliser le virus cible pour assurer la protection. Au-delà donc de la détection d'anticorps, la recherche et la quantification d'anticorps neutralisants permettent de prédire la protection. Plusieurs méthodes sont utilisées pour rechercher les anticorps neutralisants dans le cas du SARS-CoV-2.

Test de neutralisation virale

La méthode de référence de la recherche d'anticorps neutralisants est le test de séroneutralisation vis-à-vis d'un isolat de SARS-CoV-2 en culture cellulaire. Des dilutions successives du sérum à tester sont incubées avec une quantité connue de SARS-CoV-2 et les mélanges sont ensuite inoculés aux cellules. Le titre d'anticorps neutralisants correspond à l'inverse de la plus grande dilution permettant d'obtenir une protection de 50% des cellules et est habituellement exprimé en NT50 (Neutralizing titer 50). Plusieurs méthodes de lecture sont utilisées pour la

détermination du titre d'anticorps : comme la lecture directe de l'effet cytopathique (ECP) ou l'utilisation d'une coloration d'immunocytochimie (121). Malheureusement, cette technique est complexe, chronophage (2 à 4 jours), et nécessite un technicien expérimenté. De plus, en ce qui concerne le SARS-CoV-2, cette technique nécessite sur le plan réglementaire d'être réalisée dans un laboratoire P3, car impliquant de la culture de SARS-CoV-2.

Test de neutralisation par pseudovirus

Les contraintes techniques imposées par le test de neutralisation sur un isolat de SARS-CoV-2 ont amené à la mise en place d'une technique alternative, moins exigeante. Les pseudovirus sont des particules contenant un « noyau » viral entouré d'une membrane comportant des glycoprotéines de surface du virus à étudier. Ce pseudovirus ne comporte pas le matériel génétique indispensable à la synthèse de protéines virales empêchant donc sa réplication. Dans le cadre du SARS-CoV-2, le pseudovirus est souvent basé sur le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV) ou sur un rétrovirus comme le virus de la leucémie murine, ou les lentivirus. La construction génétique comporte habituellement un gène rapporteur comme la luciférase. Ce dernier permet après l'entrée du virus, la synthèse de protéines fluorescentes, révélant la présence ou non du pseudovirus dans la cellule. Les étapes de cette technique sont illustrées sur la figure 18. L'avantage principal de cette technique est sa sécurité de par la manipulation de virus non infectieux. Elle est réalisable dans les laboratoires de type P2 (122).

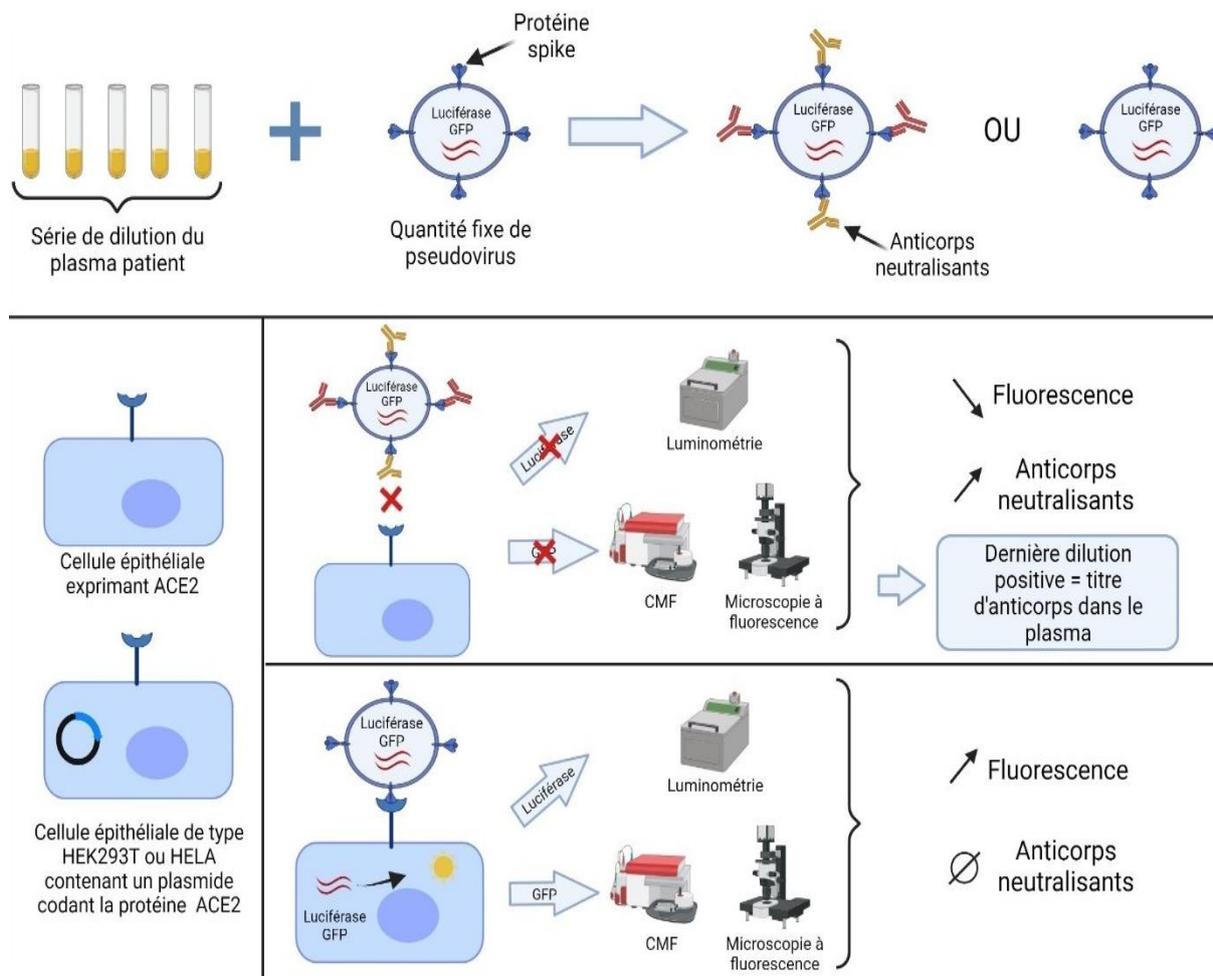


Figure 18 : Schéma explicatif de la réalisation du test de neutralisation par utilisation de pseudovirus

Test de neutralisation par technique ELISA

Le test de neutralisation par pseudovirus est une excellente alternative à la méthode de référence. Néanmoins, cette technique nécessite toujours d'utiliser des virus en culture cellulaire. Des tests dits « de neutralisation en ELISA » permettront d'éviter cette contrainte, et d'obtenir une utilisation plus massive des tests de neutralisation en routine. Un exemple de ce type de test a été développé par GenScript, une entreprise de biotechnologie (107). L'utilisation à la fois de récepteurs ACE2 purifiés, et d'antigène RBD dans cette approche ELISA permet de mettre en évidence le pouvoir neutralisant des anticorps comme le montre la figure 19 (123).

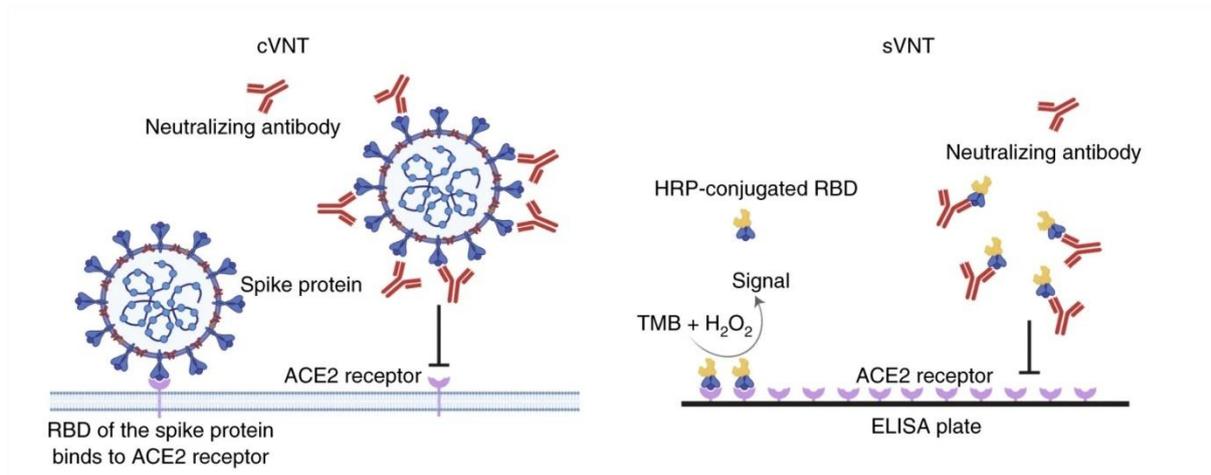


Figure 19 : Comparaison des tests de neutralisation par une technique gold standard (à gauche) et par technique ELISA (à droite) (123)

On considère la présence d'anticorps neutralisants lorsque le taux d'inhibition est supérieur à 30%. Une concordance a été retrouvée avec les tests de séroneutralisation en culture cellulaire (107,123,124).

ELISPOT

Le test ELISPOT est une méthode diagnostique quantitative, sensible, simple et rapide d'évaluation de la réponse immunitaire cellulaire médiée par les lymphocytes T. Ce test constitue un bon complément à l'évaluation du versant humoral, et aussi une méthode alternative à la sérologie pour les sujets atteints de déficit primaire en ce qui concerne la production d'anticorps ou ceux recevant une thérapie pouvant interférer avec les résultats sérologiques (125).

L'objectif est de dénombrer la quantité de lymphocytes T produisant de l'INF- γ en présence d'un antigène. Ainsi les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMCs) sont incubées avec différents antigènes du SARS-CoV-2 en présence de phytohémagglutinine (126). La procédure dont les différentes étapes sont représentées sur la figure 20, conduit à une évaluation de la production d'INF- γ . Dans une étude récente, la sensibilité et la spécificité de cette technique ont été estimées à respectivement 96.7% et 90.3% (125).

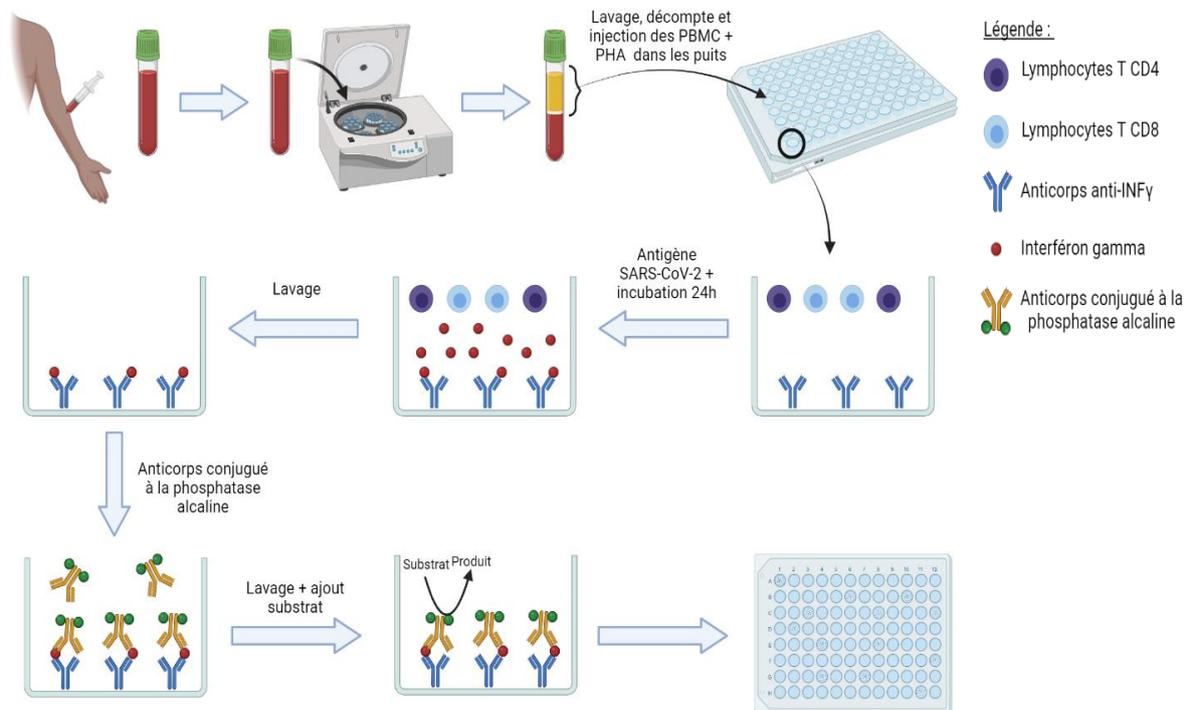


Figure 20 : Etape de réalisation du test T-SPOT COVID

Etude de l'activation des LT en cytométrie de flux

Après l'ELISPOT, la cytométrie en flux est une deuxième approche d'étude du versant cellulaire de la réponse immunitaire adaptative au cours de l'infection par le SARS-CoV-2. Elle permet l'étude des marqueurs membranaires et intracellulaires des LT en présence d'un ou de plusieurs antigènes du SARS-CoV-2.

Une description exhaustive de la méthode et des marqueurs est présentée dans l'étude de Demaret et al (127).

La finalité est de conclure à l'activation ou non des lymphocytes sur la base d'un panel de marqueurs. Brièvement, un signal des marqueurs au moins deux fois supérieur au signal de l'échantillon témoin (sans stimulation antigénique) permet de conclure à des lymphocytes activés. Les principaux marqueurs recherchés sont :

- Lymphocytes T CD4 : recherche des marqueurs CD154 et le CD69. Le CD69 est un marqueur d'activation précoce des lymphocytes T, tandis que le CD154 est d'apparition plus tardive.
- Lymphocytes T CD8 : recherche du marqueur CD107a, spécifique de la dégranulation des LTCD8 et NK après activation ainsi que le CD69.

En plus des marqueurs membranaires, l'étude de cytokines produites (TNF α , l'IL2 et l'IFN γ) est également possible en cytométrie en flux.

Ouverture vers la recherche clinico-biologique

A côté de cette revue de littérature sur la réponse antivirale vis-à-vis du SARS-CoV-2, il est envisagé également deux travaux de recherche clinico-biologique.

1) Interféron alpha et anticorps neutralisants chez les patients COVID-19

Les données présentées dans cette revue montrent bien l'importance de ces deux marqueurs au cours de l'infection par le SARS-CoV-2. Nous avons évalué ces deux marqueurs chez des patients COVID-19 admis en réanimation et recherché des caractéristiques démographiques, cliniques et pronostiques associées. Nous avons observé principalement que les taux faibles d'IFN α étaient significativement associés à un âge plus élevé chez les patients. Pour confirmer cette donnée, nous avons quantifié ce marqueur sur une cohorte significative de patients non hospitalisés de moins de 60 ans.

2) Comparaison de tests ELISA détectant des anticorps anti-SARS-CoV-2 à la séroneutralisation virale

Le pouvoir neutralisant du sérum vis-à-vis du SARS-CoV-2 est un des éléments majeurs pour la prédiction de la protection aussi bien après une infection naturelle, qu'après une immunisation post-vaccinale. Les tests ELISA quantitatifs utilisés actuellement en routine fournissent des titres qui sont parfois difficiles à utiliser pour prédire la protection. Nous envisageons donc la comparaison de ces tests à la méthode de neutralisation virale utilisant plusieurs variants.

CONCLUSION

La pandémie de la COVID-19 restera sans aucun doute un des principaux événements qui auront marqué notre ère. Comme on l'entend fréquemment au cours des échanges populaires : « il y aura un avant et un après COVID-19 ». L'impact socioéconomique est certes colossal, mais la COVID-19, c'est avant tout des malades, des services de réanimation bondés, du personnel soignant surmené et beaucoup de décès.

L'un des éléments majeurs qui déterminent l'issue de cette infection virale est certainement l'interaction entre le SARS-CoV-2 et le système immunitaire. Des recherches scientifiques presque en temps réel, mais se basant parfois aussi sur un précédent connu (le SARS-CoV) ont permis d'améliorer la compréhension de la physiopathologie de la maladie et notamment les modalités de la réponse du système immunitaire.

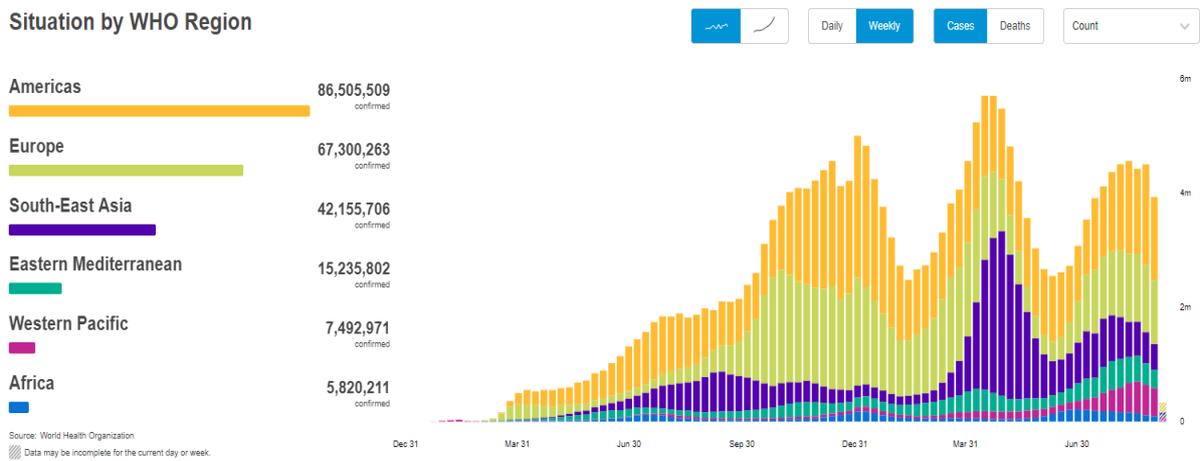
Dans ce travail, l'infection par le SARS-CoV-2 et son pathogène ont été brièvement décrits, en faisant le choix d'omettre les aspects thérapeutiques et vaccinaux. La réponse du système immunitaire a été ensuite développée en y décrivant les acteurs, les composantes, les mécanismes et les conséquences chez l'hôte. Enfin les méthodes d'évaluation de la réponse immunitaire ont été présentées.

L'immunité innée puis l'immunité adaptative ont pour but initial l'élimination du virus. Néanmoins, la réponse immunitaire peut être inappropriée chez certains sujets, qui vont développer une maladie grave. Ainsi, des désordres qualitatifs et quantitatifs des différents acteurs peuvent entraîner une hyperinflammation (orage cytokinique) chronique et une hypercoagulabilité, à l'origine de lésions graves. La compréhension des modalités de réponse du système immunitaire a permis d'adapter les solutions thérapeutiques, et de comprendre la réponse induite par la vaccination qui reste à ce jour le meilleur espoir de sortie de la pandémie. Les outils d'évaluation permettant de disposer de marqueurs diagnostiques, pronostiques et de prédiction de l'immunisation.

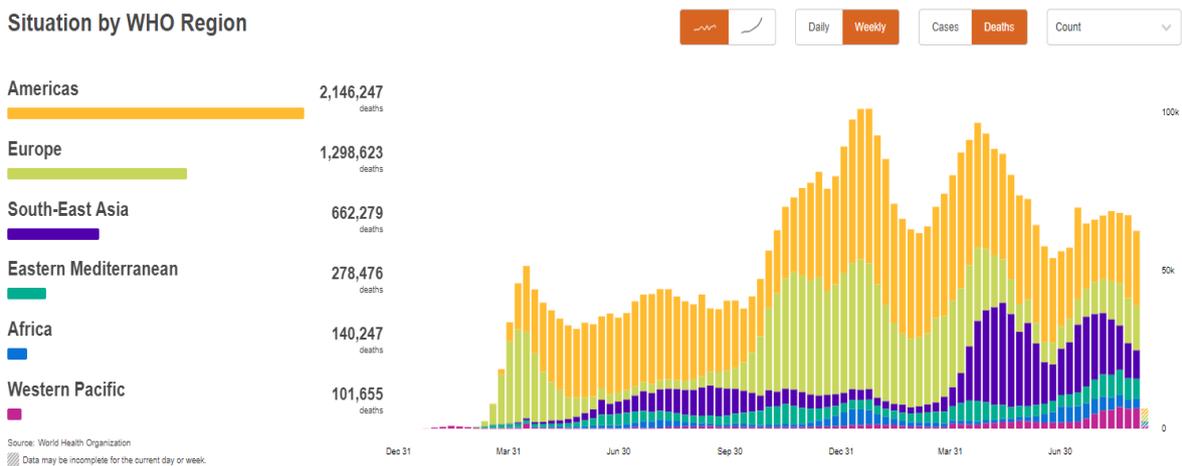
Toutefois, tous les mécanismes de la réponse immunitaire au cours de l'infection par le SARS-CoV-2 ne sont pas entièrement élucidés, et la recherche continue pour mieux comprendre la réponse au cours de l'infection naturelle, ou suite à une vaccination.

Annexes

Annexe 1: Répartition du nombre de cas COVID-19 positif par semaine du 01/01/2020 au 15/09/2021 (128).

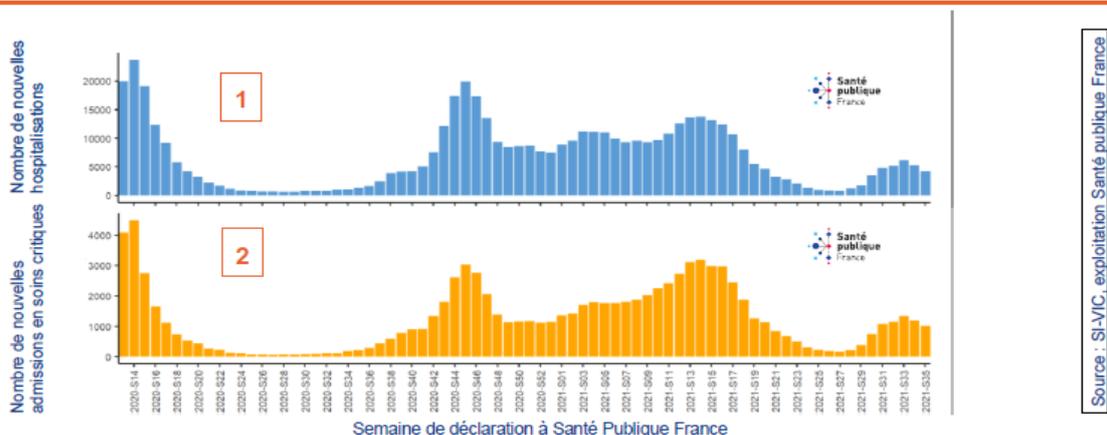


Répartition du taux de décès par semaine du 01/01/2020 au 15/09/2021 (128).



Annexe 2: Graphique du nombre de nouvelles personnes hospitalisés (1) et du taux d'admission en soins critiques (2) entre Mars 2020 et Septembre 2021 (18).

Nombre hebdomadaire de patients COVID-19 nouvellement hospitalisés (1) et de nouvelles admissions en services de soins critiques (2) depuis le 23 mars 2020, France (au 05 septembre 2021)



Références

1. Dong E, Du H, Gardner L. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *Lancet Infect Dis.* mai 2020;20(5):533-4.
2. Astrid V, Meriadeg AG. *Traité de Virologie Médicale : Chapitre 38 : Coronavirus.* 2019. 547-562 p.
3. Hamre D, Procknow JJ. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc Soc Exp Biol Med.* janv 1966;121(1):190-3.
4. McIntosh K, Becker WB, Chanock RM. Growth in suckling-mouse brain of « IBV-like » viruses from patients with upper respiratory tract disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* déc 1967;58(6):2268-73.
5. Peiris JSM, Guan Y, Yuen KY. Severe acute respiratory syndrome. *Nat Med.* déc 2004;10(12 Suppl):S88-97.
6. Peiris JSM, Yuen KY, Osterhaus ADME, Stöhr K. The severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med.* 18 déc 2003;349(25):2431-41.
7. van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJM, Wolthers KC, et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med.* avr 2004;10(4):368-73.
8. Woo PCY, Lau SKP, Chu C, Chan K, Tsoi H, Huang Y, et al. Characterization and Complete Genome Sequence of a Novel Coronavirus, Coronavirus HKU1, from Patients with Pneumonia. *J Virol.* janv 2005;79(2):884-95.
9. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME, Fouchier RAM. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med.* 8 nov 2012;367(19):1814-20.
10. MERS-CoV [Internet]. Institut Pasteur. 2015 [cité 21 avr 2021]. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/mers-cov>
11. Guery B, Poissy J, el Mansouf L, Séjourné C, Ettahar N, Lemaire X, et al. Clinical features and viral diagnosis of two cases of infection with Middle East Respiratory Syndrome coronavirus: a report of nosocomial transmission. *Lancet.* 29 juin 2013;381(9885):2265-72.

12. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 20 févr 2020;382(8):727-33.
13. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol.* mars 2021;19(3):141-54.
14. Coronaviridae - Positive Sense RNA Viruses - Positive Sense RNA Viruses (2011) - ICTV [Internet]. [cité 30 avr 2021]. Disponible sur: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae
15. Singh D, Yi SV. On the origin and evolution of SARS-CoV-2. *Experimental & Molecular Medicine.* 16 avr 2021;1-11.
16. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med.* avr 2020;26(4):450-2.
17. Santé Publique France. Coronavirus : chiffres clés et évolution de la COVID-19 en France et dans le Monde [Internet]. 2021 [cité 15 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#block-266151>
18. Santé publique France. COVID-19 point épidémiologique. 2021.
19. Haute Autorité de Santé. Stratégie de vaccination contre le Sars-Cov-2 Actualisation des facteurs de risque de formes graves de la covid-19 et des recommandations sur la stratégie de priorisation des populations à vacciner [Internet]. 2021 [cité 17 sept 2021]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2021-03/actualisation_des_facteurs_de_risque_de_formes_graves_de_la_covid-19_et_des_reco_sur_la_strategie_de_priorisation_des_popula.pdf
20. Meyerowitz EA, Richterman A, Gandhi RT, Sax PE. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. *Ann Intern Med.* janv 2021;174(1):69-79.

21. Coronavirus et Covid-19 [Internet]. Inserm - La science pour la santé. [cité 9 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/coronavirus-sars-cov-et-mers-cov>
22. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med.* mai 2020;26(5):672-5.
23. Nakajima Y, Ogai A, Furukawa K, Arai R, Anan R, Nakano Y, et al. Prolonged viral shedding of SARS-CoV-2 in an immunocompromised patient. *J Infect Chemother.* févr 2021;27(2):387-9.
24. Aspects immunologiques et virologiques de l'infection par le SARS-CoV-2 [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 23 avr 2021]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3221567/fr/aspects-immunologiques-et-virologiques-de-l-infection-par-le-sars-cov-2
25. Kim D, Lee J-Y, Yang J-S, Kim JW, Kim VN, Chang H. The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell.* 14 mai 2020;181(4):914-921.e10.
26. Satarker S, Nampoothiri M. Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. *Arch Med Res.* août 2020;51(6):482-91.
27. Kirtipal N, Bharadwaj S, Kang SG. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. *Infect Genet Evol.* nov 2020;85:104502.
28. Schoeman D, Fielding BC. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virol J.* 27 mai 2019;16(1):69.
29. McBride R, van Zyl M, Fielding BC. The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses.* 7 août 2014;6(8):2991-3018.
30. van Dorp L, Richard D, Tan CCS, Shaw LP, Acman M, Balloux F. No evidence for increased transmissibility from recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Nature Communications.* 25 nov 2020;11(1):5986.
31. González-Candelas F, Shaw M-A, Phan T, Kulkarni-Kale U, Paraskevis D, Luciani F, et al. One year into the pandemic: Short-term evolution of SARS-CoV-2 and emergence of new lineages. *Infect Genet Evol.* août 2021;92:104869.

32. Alm E, Broberg EK, Connor T, Hodcroft EB, Komissarov AB, Maurer-Stroh S, et al. Geographical and temporal distribution of SARS-CoV-2 clades in the WHO European Region, January to June 2020. *Euro Surveill.* août 2020;25(32).
33. To KK-W, Sridhar S, Chiu KH-Y, Hung DL-L, Li X, Hung IF-N, et al. Lessons learned 1 year after SARS-CoV-2 emergence leading to COVID-19 pandemic. *Emerg Microbes Infect.* déc 2021;10(1):507-35.
34. Abdel-Moneim AS, Abdelwhab EM, Memish ZA. Insights into SARS-CoV-2 evolution, potential antivirals, and vaccines. *Virology.* juin 2021;558:1-12.
35. Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, Hill V, McCrone JT, Ruis C, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol.* nov 2020;5(11):1403-7.
36. Santé Publique France. Coronavirus : circulation des variants du SARS-CoV-2. [Internet]. 2021 [cité 1 oct 2021]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/dossiers/coronavirus-covid-19/coronavirus-circulation-des-variants-du-sars-cov-2>
37. European Centre for Disease Prevention and Control. SARS-CoV-2 variants of concern as of 30 September 2021 [Internet]. 2021 [cité 1 oct 2021]. Disponible sur: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/variants-concern>
38. Funk T, Pharris A, Spiteri G, Bundle N, Melidou A, Carr M, et al. Characteristics of SARS-CoV-2 variants of concern B.1.1.7, B.1.351 or P.1: data from seven EU/EEA countries, weeks 38/2020 to 10/2021. *Euro Surveill.* avr 2021;26(16).
39. Public Health England. SARS-CoV-2 variants of concern and variants under investigation in England [Internet]. 2021. Disponible sur: https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/1001359/Variants_of_Concern_VOC_Technical_Briefing_16.pdf
40. Dylan Juckel, Jean Dubuisson, Sandrine Belouzard. Les coronavirus, ennemis incertains. 2020.

41. Hartenian E, Nandakumar D, Lari A, Ly M, Tucker JM, Glaunsinger BA. The molecular virology of coronaviruses. *J Biol Chem.* 11 sept 2020;295(37):12910-34.
42. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol.* mars 2021;19(3):155-70.
43. C. Waechter. Manifestations cliniques et paracliniques de la COVID-19, diagnostic virologique [Internet]. *Neurol psychiatr gériatr*; Disponible sur: <https://doi.org/10.1016/j.npg.2021.05.011>
44. Yanes-Lane M, Winters N, Fregonese F, Bastos M, Perlman-Arrow S, Campbell JR, et al. Proportion of asymptomatic infection among COVID-19 positive persons and their transmission potential: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2020;15(11):e0241536.
45. Mizumoto K, Kagaya K, Zarebski A, Chowell G. Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020. *Euro Surveill.* mars 2020;25(10).
46. Synowiec A, Szczepański A, Barreto-Duran E, Lie LK, Pyrc K. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): a Systemic Infection. *Clin Microbiol Rev.* 17 mars 2021;34(2).
47. Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern Med.* 1 juill 2020;180(7):934-43.
48. Sébastien Hantz. Diagnostic biologique de l'infection à Sars-CoV-2 : stratégies et interprétation des résultats. 2020.
49. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA.* 9 juin 2020;323(22):2249-51.

50. Milliere L, Engelmann I, Tinez C, Bouarouro Y, Ouafi M, Lazrek M, et al. Stool samples versus nasopharyngeal specimens for the initial diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *J Med Virol.* juill 2021;93(7):4145-6.
51. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* janv 2020;25(3).
52. Engelmann I, Alidjinou EK, Ogiez J, Pagneux Q, Miloudi S, Benhalima I, et al. Preanalytical Issues and Cycle Threshold Values in SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Testing: Should Test Results Include These? *ACS Omega.* 16 mars 2021;6(10):6528-36.
53. Haute Autorité de Santé. Avis n° 2020.0081/AC/SEAP du 27 novembre 2020 du collège de la Haute Autorité de santé relatif à l'inscription sur la liste des actes et prestations mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale, de l'acte de détection du génome du virus SARS-CoV-2 par technique RT-LAMP intégrée sur prélèvement salivaire (système EASYCOV) [Internet]. 2020. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3221176/fr/avis-n-2020-0081/ac/seap-du-27-novembre-2020-du-college-de-la-haute-autorite-de-sante-relatif-a-l-inscription-sur-la-liste-des-actes-et-prestations-mentionnee-a-l-article-l-162-1-7-du-code-de-la-securite-sociale-de-l-acte-de-detection-du-genome-du-virus-sars-cov-2-par-technique-rt-lamp-integree-sur-prelevement-salivaire-systeme-easycov
54. Haute Autorité de Santé. Évaluation de l'intérêt diagnostique des tests RT-LAMP réalisés sur système intégré et prélèvement salivaire pour détecter les sujets infectés par le SARS-CoV-2 [Internet]. 2021 [cité 8 oct 2021]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3280186/fr/evaluation-de-l-interet-diagnostique-des-tests-rt-lamp-realises-sur-systeme-integre-et-prelevement-salivaire-pour-detecter-les-sujets-infectes-par-le-sars-cov-2
55. Haute Autorité de Santé. Avis n°2021.0012/AC/SEAP du 11 mars 2021 du collège de la Haute Autorité de santé relatif à l'inscription sur la liste des actes et prestations mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale, de la détection du génome du virus SARS-CoV-2 par technique isotherme d'amplification médiée par la transcription (TMA) sur prélèvement salivaire [Internet]. 2021 [cité 8 oct 2021]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3280186/fr/evaluation-de-l-interet-diagnostique-des-tests-rt-lamp-realises-sur-systeme-integre-et-prelevement-salivaire-pour-detecter-les-sujets-infectes-par-le-sars-cov-2

sante.fr/jcms/p_3243221/fr/avis-n2021-0012/ac/seap-du-11-mars-2021-du-college-de-la-has-relatif-a-l-inscription-sur-la-lap-mentionnee-a-l-article-l-162-1-7-du-css-de-la-detection-du-genome-du-virus-sars-cov-2-par-technique-isotherme-d-amplification-mediee-par-la-transcription-tma-sur-prelevement-salivaire

56. Haute Autorité de Santé. Revue rapide sur les tests de détection antigénique du virus SARS-CoV-2 [Internet]. 2020. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3213483/fr/revue-rapide-sur-les-tests-de-detection-antigenique-du-virus-sars-cov-2
57. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*. 18 févr 2021;184(4):861-80.
58. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 28 avr 2020;1-12.
59. García LF. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. *Front Immunol*. 16 juin 2020;11:1441.
60. Ricci D, Etna MP, Rizzo F, Sandini S, Severa M, Coccia EM. Innate Immune Response to SARS-CoV-2 Infection: From Cells to Soluble Mediators. *Int J Mol Sci*. 29 juin 2021;22(13):7017.
61. Kim Y-M, Shin E-C. Type I and III interferon responses in SARS-CoV-2 infection. *Exp Mol Med*. 6 mai 2021;53(5):750-60.
62. Bastard P, Rosen LB, Zhang Q, Michailidis E, Hoffmann H-H, Zhang Y, et al. Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. *Science*. 23 oct 2020;370(6515):eabd4585.
63. Sa Ribero M, Jouvenet N, Dreux M, Nisole S. Interplay between SARS-CoV-2 and the type I interferon response. *PLoS Pathog*. 29 juill 2020;16(7):e1008737.
64. 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.

65. Lowery SA, Sariol A, Perlman S. Innate immune and inflammatory responses to SARS-CoV-2: Implications for COVID-19. *Cell Host Microbe*. 14 juill 2021;29(7):1052-62.
66. Galani I-E, Rovina N, Lampropoulou V, Triantafyllia V, Manioudaki M, Pavlos E, et al. Untuned antiviral immunity in COVID-19 revealed by temporal type I/III interferon patterns and flu comparison. *Nat Immunol*. janv 2021;22(1):32-40.
67. Broggi A, Ghosh S, Sposito B, Spreafico R, Balzarini F, Lo Cascio A, et al. Type III interferons disrupt the lung epithelial barrier upon viral recognition. *Science*. 7 août 2020;369(6504):706-12.
68. Feld JJ, Kandel C, Biondi MJ, Kozak RA, Zahoor MA, Lemieux C, et al. Peginterferon lambda for the treatment of outpatients with COVID-19: a phase 2, placebo-controlled randomised trial. *Lancet Respir Med*. mai 2021;9(5):498-510.
69. Shibabaw T, Molla MD, Teferi B, Ayelign B. Role of IFN and Complements System: Innate Immunity in SARS-CoV-2. *J Inflamm Res*. 2020;13:507-18.
70. Lee S, Channappanavar R, Kanneganti T-D. Coronaviruses: Innate Immunity, Inflammasome Activation, Inflammatory Cell Death, and Cytokines. *Trends Immunol*. déc 2020;41(12):1083-99.
71. Ragab D, Salah Eldin H, Taeimah M, Khattab R, Salem R. The COVID-19 Cytokine Storm; What We Know So Far. *Front Immunol*. 2020;11:1446.
72. Coperchini F, Chiovato L, Croce L, Magri F, Rotondi M. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. *Cytokine Growth Factor Rev*. juin 2020;53:25-32.
73. Chouaki Benmansour N, Carvelli J, Vivier E. Complement cascade in severe forms of COVID-19: Recent advances in therapy. *Eur J Immunol*. 10 avr 2021;10.1002/eji.202048959.
74. Ng N, Powell CA. Targeting the Complement Cascade in the Pathophysiology of COVID-19 Disease. *J Clin Med*. 19 mai 2021;10(10):2188.
75. Java A, Apicelli AJ, Liszewski MK, Coler-Reilly A, Atkinson JP, Kim AHJ, et al. The complement system in COVID-19: friend and foe? *JCI Insight*. 5(15):e140711.

76. Kurtovic L, Beeson JG. Complement Factors in COVID-19 Therapeutics and Vaccines. *Trends Immunol.* févr 2021;42(2):94-103.
77. Sinkovits G, Mező B, Réti M, Müller V, Iványi Z, Gál J, et al. Complement Overactivation and Consumption Predicts In-Hospital Mortality in SARS-CoV-2 Infection. *Front Immunol.* 25 mars 2021;12:663187.
78. Park A, Iwasaki A. Type I and Type III Interferons – Induction, Signaling, Evasion, and Application to Combat COVID-19. *Cell Host Microbe.* 10 juin 2020;27(6):870-8.
79. Lei X, Dong X, Ma R, Wang W, Xiao X, Tian Z, et al. Activation and evasion of type I interferon responses by SARS-CoV-2. *Nat Commun.* 30 juill 2020;11:3810.
80. Xia H, Cao Z, Xie X, Zhang X, Chen JY-C, Wang H, et al. Evasion of Type I Interferon by SARS-CoV-2. *Cell Rep.* 6 oct 2020;33(1):108234.
81. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell.* 25 juin 2020;181(7):1489-1501.e15.
82. DiPiazza AT, Graham BS, Ruckwardt TJ. T cell immunity to SARS-CoV-2 following natural infection and vaccination. *Biochem Biophys Res Commun.* 29 janv 2021;538:211-7.
83. Mortaz E, Tabarsi P, Varahram M, Folkerts G, Adcock IM. The Immune Response and Immunopathology of COVID-19. *Front Immunol.* 2020;11:2037.
84. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell.* 18 févr 2021;184(4):861-80.
85. Yang L, Liu S, Liu J, Zhang Z, Wan X, Huang B, et al. COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics. *Signal Transduct Target Ther.* 25 juill 2020;5:128.
86. Forthal D. Adaptive immune responses to SARS-CoV-2. *Adv Drug Deliv Rev.* mai 2021;172:1-8.

87. Weiskopf D, Schmitz KS, Raadsen MP, Grifoni A, Okba NMA, Endeman H, et al. Phenotype and kinetics of SARS-CoV-2-specific T cells in COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome. *Sci Immunol*. 26 juin 2020;5(48):eabd2071.
88. Luo X-H, Zhu Y, Mao J, Du R-C. T cell immunobiology and cytokine storm of COVID-19. *Scand J Immunol*. mars 2021;93(3):e12989.
89. Wu D, Yang XO. TH17 responses in cytokine storm of COVID-19: An emerging target of JAK2 inhibitor Fedratinib. *J Microbiol Immunol Infect*. juin 2020;53(3):368-70.
90. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M, et al. Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity*. 16 juin 2020;52(6):910-41.
91. Röltgen K, Boyd SD. Antibody and B cell responses to SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell Host Microbe*. 14 juill 2021;29(7):1063-75.
92. Baumgarth N, Nikolich-Zugich J, Lee FE-H, Bhattacharya D. Antibody Responses to SARS-CoV-2: Let's Stick to Known Knowns. *J Immunol*. 1 nov 2020;205(9):2342-50.
93. Quast I, Tarlinton D. B cell memory: understanding COVID-19. *Immunity*. 9 févr 2021;54(2):205-10.
94. Iyer AS, Jones FK, Nodoushani A, Kelly M, Becker M, Slater D, et al. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. 8 oct 2020;5(52):eabe0367.
95. Röltgen K, Powell AE, Wirz OF, Stevens BA, Hogan CA, Najeeb J, et al. Defining the features and duration of antibody responses to SARS-CoV-2 infection associated with disease severity and outcome. *Sci Immunol*. 7 déc 2020;5(54):eabe0240.
96. Hansen CB, Jarlhelt I, Pérez-Alós L, Hummelshøj Landsy L, Loftager M, Rosbjerg A, et al. SARS-CoV-2 Antibody Responses Are Correlated to Disease Severity in COVID-19 Convalescent Individuals. *J Immunol*. 1 janv 2021;206(1):109-17.

97. Taylor PC, Adams AC, Hufford MM, de la Torre I, Winthrop K, Gottlieb RL. Neutralizing monoclonal antibodies for treatment of COVID-19. *Nat Rev Immunol.* juin 2021;21(6):382-93.
98. Arvin AM, Fink K, Schmid MA, Cathcart A, Spreafico R, Havenar-Daughton C, et al. A perspective on potential antibody-dependent enhancement of SARS-CoV-2. *Nature.* août 2020;584(7821):353-63.
99. Vanshylla K, Di Cristanziano V, Kleipass F, Dewald F, Schommers P, Gieselmann L, et al. Kinetics and correlates of the neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans. *Cell Host Microbe.* 9 juin 2021;29(6):917-929.e4.
100. Chvatal-Medina M, Mendez-Cortina Y, Patiño PJ, Velilla PA, Rugeles MT. Antibody Responses in COVID-19: A Review. *Front Immunol.* 15 avr 2021;12:633184.
101. Lee E, Oh JE. Humoral Immunity against SARS-CoV-2 and the Impact on COVID-19 Pathogenesis. *Mol Cells.* 30 juin 2021;44(6):392-400.
102. Schlickeiser S, Schwarz T, Steiner S, Wittke K, Al Beshar N, Meyer O, et al. Disease Severity, Fever, Age, and Sex Correlate With SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody Responses. *Front Immunol.* 2020;11:628971.
103. Lee WS, Wheatley AK, Kent SJ, DeKosky BJ. Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies. *Nat Microbiol.* oct 2020;5(10):1185-91.
104. Stephens DS, McElrath MJ. COVID-19 and the Path to Immunity. *JAMA.* 6 oct 2020;324(13):1279-81.
105. Sokal A, Chappert P, Barba-Spaeth G, Roeser A, Fourati S, Azzaoui I, et al. Maturation and persistence of the anti-SARS-CoV-2 memory B cell response. *Cell.* 4 mars 2021;184(5):1201-1213.e14.
106. Kaneko N, Kuo H-H, Boucau J, Farmer JR, Allard-Chamard H, Mahajan VS, et al. Loss of Bcl-6-Expressing T Follicular Helper Cells and Germinal Centers in COVID-19. *Cell.* 1 oct 2020;183(1):143-157.e13.

107. Shi AC, Ren P. SARS-CoV-2 serology testing: Progress and challenges. *J Immunol Methods*. juill 2021;494:113060.
108. Haute Autorité de Santé. Avis n° 2021.0042/AC/SEAP du 17 juin 2021 du collège de la Haute Autorité de santé relatif aux modifications des conditions d'inscription sur la liste des actes et prestations mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale, de la détection des anticorps sériques dirigés contre le coronavirus SARS-CoV-2. 17 juin 2021; Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3272801/fr/avis-n-2021-0042/ac/seap-du-17-juin-2021-du-college-de-la-has-relatif-aux-modifications-des-conditions-d-inscription-sur-la-lap-mentionnee-a-l-article-l-162-1-7-du-css-de-la-detection-des-anticorps-seriques-diriges-contre-le-coronavirus-sars-cov-2
109. Ong DSY, Fragkou PC, Schweitzer VA, Chemaly RF, Moschopoulos CD, Skevaki C, et al. How to interpret and use COVID-19 serology and immunology tests. *Clin Microbiol Infect*. juill 2021;27(7):981-6.
110. Machado BAS, Hodel KVS, Barbosa-Júnior VG, Soares MBP, Badaró R. The Main Molecular and Serological Methods for Diagnosing COVID-19: An Overview Based on the Literature. *Viruses*. 29 déc 2020;13(1):E40.
111. EUROIMMUN. Anti-SARS-CoV-2 QuantiVac ELISA (IgG). févr 2021 [cité 11 oct 2021]; Disponible sur: https://www.biognost.be/diagnostics/wp-content/uploads/2021/02/EI_2606_D_UK_E04_web-Quantivac.pdf
112. Trabaud M-A, Icard V, Milon M-P, Bal A, Lina B, Escuret V. Comparison of eight commercial, high-throughput, automated or ELISA assays detecting SARS-CoV-2 IgG or total antibody. *J Clin Virol*. nov 2020;132:104613.
113. Brochot E, Demey B, Handala L, François C, Duverlie G, Castelain S. Comparison of different serological assays for SARS-CoV-2 in real life. *J Clin Virol*. sept 2020;130:104569.
114. Weidner L, Gänsdorfer S, Unterweger S, Weseslindtner L, Drexler C, Farcet M, et al. Quantification of SARS-CoV-2 antibodies with eight commercially available immunoassays. *J Clin Virol*. août 2020;129:104540.

115. Pflüger LS, Bannasch JH, Brehm TT, Pfefferle S, Hoffmann A, Nörz D, et al. Clinical evaluation of five different automated SARS-CoV-2 serology assays in a cohort of hospitalized COVID-19 patients. *J Clin Virol.* sept 2020;130:104549.
116. Marlet J, Petillon C, Ragot E, Abou El Fattah Y, Guillon A, Marchand Adam S, et al. Clinical performance of four immunoassays for antibodies to SARS-CoV-2, including a prospective analysis for the diagnosis of COVID-19 in a real-life routine care setting. *J Clin Virol.* nov 2020;132:104633.
117. Harritshøj LH, Gybel-Brask M, Afzal S, Kamstrup PR, Jørgensen CS, Thomsen MK, et al. Comparison of 16 Serological SARS-CoV-2 Immunoassays in 16 Clinical Laboratories. *J Clin Microbiol.* 20 avr 2021;59(5):e02596-20.
118. Zonneveld R, Jurriaans S, van Gool T, Hofstra JJ, Hekker TAM, Defoer P, et al. Head-to-head validation of six immunoassays for SARS-CoV-2 in hospitalized patients. *J Clin Virol.* juin 2021;139:104821.
119. D’Cruz RJ, Currier AW, Sampson VB. Laboratory Testing Methods for Novel Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2). *Front Cell Dev Biol.* 4 juin 2020;8:468.
120. Galipeau Y, Greig M, Liu G, Driedger M, Langlois M-A. Humoral Responses and Serological Assays in SARS-CoV-2 Infections. *Front Immunol.* 18 déc 2020;11:610688.
121. Younes N, Al-Sadeq DW, AL-Jighefee H, Younes S, Al-Jamal O, Daas HI, et al. Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Viruses.* 26 mai 2020;12(6):582.
122. Cantoni D, Mayora-Neto M, Temperton N. The role of pseudotype neutralization assays in understanding SARS CoV-2. *Oxf Open Immunol.* 2021;2(1):iqab005.
123. Tan CW, Chia WN, Qin X, Liu P, Chen MI-C, Tiu C, et al. A SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test based on antibody-mediated blockage of ACE2-spike protein-protein interaction. *Nat Biotechnol.* sept 2020;38(9):1073-8.
124. Perera RAPM, Ko R, Tsang OTY, Hui DSC, Kwan MYM, Brackman CJ, et al. Evaluation of a SARS-CoV-2 Surrogate Virus Neutralization Test for Detection of

Antibody in Human, Canine, Cat, and Hamster Sera. *J Clin Microbiol.* 21 janv 2021;59(2):e02504-20.

125. 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.* 2020;9(12):e1217.
126. Oxford Immunotec Ltd. T-SPOT.COVID [Internet]. 2021 [cité 12 sept 2021]. Disponible sur: <https://www.tspotcovid.com/wp-content/uploads/sites/5/2021/05/PI-T-SPOT.COVID-IVD-FR-v1.pdf>
127. Demaret J, Corroyer-Simovic B, Alidjinou EK, Goffard A, Trauet J, Miczek S, et al. Antibody and T cell memory immune response after two doses of the BNT162b2 mRNA vaccine in older adults with and without prior SARS-CoV-2 infection [Internet]. 2021 juill [cité 21 sept 2021] p. 2021.07.08.451426. Disponible sur: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.07.08.451426v1>
128. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. [cité 14 sept 2021]. Disponible sur: <https://covid19.who.int/>

Université de Lille
FACULTE DE PHARMACIE DE LILLE
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
Année Universitaire 2020/2021

Nom : HIRABIDIAN
Prénom : Mickaël

Titre de la thèse : REPONSE ANTIVIRALE AU COURS DE L'INFECTION PAR LE SARS-CoV-2

Mots-clés : COVID-19 - SARS-CoV-2 - Réponse antivirale - Immunité innée - Immunité adaptative - Tests sérologiques - Anticorps neutralisants.

Résumé : Depuis son identification fin décembre 2019, le SARS-CoV-2 a été responsable en octobre 2021, de 237 millions d'infections pour 4,8 millions de décès dans le monde. Les données scientifiques rapidement accumulées, ont permis une meilleure compréhension de la physiopathologie de la COVID-19, et notamment de la réponse du système immunitaire. La revue de littérature présentée ici fait le point sur caractéristiques et les modalités de cette réponse immunitaire qui détermine souvent l'issue de la maladie. La réponse initiale de l'hôte est l'initiation des mécanismes de l'immunité innée qui implique des médiateurs solubles et divers acteurs cellulaires. Au cours de l'infection par le SARS-CoV-2, il a été observé une production précoce d'interférons de type I et III qui est réduite chez les patients présentant une forme sévère de la maladie, ainsi qu'une production de chimiokines et de cytokines pro-inflammatoires, qui est quant à elle amplifiée dans les cas graves. L'immunité adaptative, plus spécifique, se met en place avec des versants cellulaire et humoral. Il est observé au cours de la COVID-19 une lymphopénie sur les lignées CD4 et CD8. Une réponse humorale robuste est également retrouvée notamment avec des taux d'anticorps plus élevés notamment dans les cas sévères.

Le développement et la mise en place de méthodes d'évaluation de la réponse immunitaire ont permis de disposer parfois d'outils complémentaires pour le diagnostic, mais surtout de disposer de marqueurs pronostiques au cours de la maladie, et de marqueurs prédictifs de protection après une infection ou une vaccination.

Membres du jury :

Président : Monsieur le Professeur BROUSSEAU Thierry, PU-PH, Université de Lille, CHU Lille

Assesseur(s) : Madame le Docteur BOCKET Laurence, PH, CHU Lille
Madame le Docteur DEMARET Julie, MCU-PH, Université de Lille, CHU Lille

Membre(s) extérieur(s) : Monsieur le Docteur ROBINEAU Olivier, MCU-PH, Université de Lille, CH Dron, Tourcoing

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur ALIDJINOU Enagnon Kazali, MCU-PH, Université de Lille, CHU Lille