République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Dr. Yahia Farès de Médéa
Faculté des Sciences

MÉMOIRE DE MATSER

Departement : SNV

Spécialité : IMMUNOLOGIE ET MALADIES INFECTIEUSES

Présentée par

ARKAB Kamel & MAHDI Mohammed El Amine

Thème :

EVALUATION DU SYSTÈME DU COMPLEMENT - MOLÉCULE C3,AUCOURS DE L'INFECTION PAR SARS-CoV-2

Dépôt & Évaluation par le Juryle 23 juin 2022

Devant le jury composé de :

KHAMES Maamar, Maître de Conférences A	**Présidente du jury**	**Université de Médéa**
MEZIANE Warda, Maître de Conférences B	**Promotrice**	**Université de Médéa**
GASMI Sara, Maître de Conférences A	**Examinatrice**	**Université de Médéa**
OUMOUNA Mustapha, Professeur	**Membre d'honneur**	**Université de Médéa**

Médéa 2021/2022

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Dr. Yahia Farès de Médéa
Faculté des Sciences



MÉMOIRE DE MATSER

Departement : SNV

Spécialité : IMMUNOLOGIE ET MALADIES INFECTIEUSES

Présentée par

ARKAB Kamel & MAHDI Mohammed El Amine

Thème :

EVALUATION DU SYSTÈME DU COMPLEMENT - MOLÉCULE C3,AUCOURS DE L'INFECTION PAR SARS-CoV-2

Dépôt & Évaluation par le Juryle 23 juin 2022

Devant le jury composé de :

KHAMES Maamar, Maître de Conférences A	**Présidente du jury**	**Université de Médéa**
MEZIANE Warda, Maître de Conférences B	**Promotrice**	**Université de Médéa**
GASMI Sara, Maître de Conférences A	**Examinatrice**	**Université de Médéa**
OUMOUNA Mustapha, Professeur	**Membre d'honneur**	**Université de Médéa**

Médéa 2021/2022

REMERCIEMENTS

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات والذي وفقنا الى إتمام هذا العمل

En préparation du rapport du projet de fin d'études, nous remercions Dieu qui nous a aidé et nous a donné patience et courage durant ces années universitaires. Nous adressons nos sincères remerciements aux personnes qui nous ont aidé ont contribué à l'élaboration de ce projet ainsi qu'à son succès durant année universitaire.

Nous tenons à remercier chaleureusement l'équipe du laboratoire de Biologie et Pharmacie Expérimentales, Université de Médéa. En particulier le Dr. Warda Meziane, notre promotrice, qui nous a grandement aidé et nous a permis de bénéficier de son encadrement, des conseils qu'elle nous a prodigué, elle a toujours été à nos côtés, et nous a donné confiance dans la réalisation de notre projet. Nous la remercions également pour ses efforts pendant cette période critique pour nous fournir un environnement de travail à distance.

Nous remercions également les membres du jury :

- Dr. GASMI Sara, Examinatrice
- Dr. KHAMES Maamar, Président
- Professeur Karine BENACHOUR, Membre d'honneur – Directrice du Laboratoire de Recherche en Biologie et Pharmacologie Expérimentales, Médéa, de nous avoir admise à travailler dans ledit Laboratoire.
- Professeur Mustapha OUNOUNA, Membre d'honneur – Responsable de la Spécialité Immunologie / Immunologie et Maladies infectieuse à l'université de Médéa.

Nous tenons à remercier également :

- Professeur Mourad Aribi - Le Directeur du Laboratoire de Recherche Biologie Moléculaire Appliquée et Immunologie Biomolim, Université de Tlemcen, Pour sa vive contribution dans la procuration des réactifs, matériels et méthodes de travail expérimental.
- Le Laboratoire de la Protection Civile, en particulier le chef de l'autorité, BEN ISSA Fathi, pour son accueil et sa coopération avec nous lors de la collecte des échantillons, et nous sommes reconnaissants pour son temps et son soutien tout au long de cette expérience.

Enfin, merci à tous ceux qui ont contribué à la réussite de ma formation et m'ont aidé lors de la rédaction de cet ouvrage.

Remerciements à Monsieur Iskander Madjid, gérant de laboratoire de protection civile.A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Introduction : La COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) est une infection respiratoire virale qui a émergé en 2019 à Wuhan en Chine. Le virus qui en est responsable est le SARS-CoV-2, qui appartient à la famille des Coronaviridae. SARS-CoV-2 est capable d'activer la réponse immunitaire inné ainsi que l'adaptative. Le système du complément est un ensemble de protéines plasmatiques et membranaires impliqué dans l'immunité innée. Il fait intervenir protéine C3 qui est la composante centrale des trois voies d'activation de ce système ; dont les rôles sont divers : Formation du complexe d'attaque membranaire (MAC) responsable de la lyse des pathogènes, recrutement des phagocytes, opsonisation et augmentation de la phagocytose avec amplification de la réponse inflammatoire, destruction des agents infectieux, élimination de complexes immuns, et le contrôle de la réponse immune spécifique. Les protéines totales est depuis longtemps utilisé en médecine afin de détecter des états inflammatoires (D.L. Dungworth 1985; J.J. Kaneko 1997). Les valeurs ainsi obtenues sont souvent complétées par un profil électrophorétique permettant de préciser quelles fractions de protéines ont vu leur concentration modifiée et ainsi essayer de préciser l'affection en cause. La molécule C3 du complément en est un élément essentiel de la réponseimmunitaire de l'hôte contre les infections virales. C3 fait partie de la fraction β2-globulines (6à 13 g/L) définie sur l'electrophoregramme.

Néanmoins, l'activation du complément et l'augmentation non contrôlée de l'inflammation via l'amplification des signaux de danger contre les antigènes a des effets cytotoxiques directs ; telle récemment rapporté, des preuves d'un dépôt de complément dans la microcirculation pulmonaire endommagée par le SRAS-CoV-2, renforçant encore l'idée que, dans les cas graves de COVID-19, l'activation du complément est un acteur primordial, générant des lésions tissulaires hémorragiques destructrices de type capillarite, caillots, et hyper inflammation, ce qui est en partie cause de l'aggravation pathologique.

De ce fait, l'investigation de la molécule C3 du complément représente élément d'une ample pertinence scientifique dans le cas le cas de l'infection à covid-19.

Objectifs : La présente étude a pour objet d'évaluer qualitativement et quantitativementles taux sériques de la molécule C3 chez des sujets atteints d'infection covid-19 à comparés aux sujets sains non infectés ; Ainsi que de déterminer les taux sériques en protéines totales par méthode de Gornal.

But : Évaluer les taux circulant de la molécule C3 du complément, chez les sujets atteint de la COVID-19 comparés aux sujets sains, lors de la première semaine de l'infection.

Matériels et Méthodes : Une population de 20 patients (6 hommes et 14 femmes) de moyenne d'âge de (47.9 ans), atteints de SARS-CoV-2 ou COVID-19 (Test sérologique positif,IgM positif) et 20 témoins sains contrôles matchés (6 Hommes et 16 femmes) de moyenne d'âge (47,8 ans) ont été sélectionnés pour cette étude. Ces malades sont choisis parmi un

échantillonnages de patients recrutés au niveau des laboratoires d'analyses biomédicales des hôpitaux et privés des villes de Médéa et Blida (Hôpital Franz Fanon), Algérie.

Résultats : Le fractionnement électrophorétique par électrophorèse de zone a montré la présence d'un mélange de protéines sur l'électrophoregramme qui sont rapprochés qualitativement et quantitativement chez les patients comparés aux témoins. Les niveaux circulants de protéines sériques sont légèrement inférieurs chez les patients infectés par sars-cov-2 comparés aux témoins sains non infectés. Mais les différences ne sont pas significatives (p=0.715 ; p>0.05).

Conclusions : Notre étude conclue la présence de mélange de protéines qualitativement et quantitativement comparables chez les patients atteints d'infection à SARS-Cov-2 (Test sérologique positif, IgM +) comparés aux témoins sains ; résultats révélés par électrophorèse de zone. De plus les taux circulants de protéines totales sérique sont légèrement différents chez les deux groupes étudiés. Nonobstant, les différences ne présentent pas de signification statistiquement en appliquant le test T de Student (p value < 0.05).

Mots-clés : Sars-Cov-2, COVID-19, Système du complément, Complément C3, β2- globulin, Protéines totals.

Abstract

Introduction:

COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) is a viral respiratory infection that emerged in 2019 in Wuhan, China. The virus responsible for this is SARS-CoV-2, which belongs to the Coronaviridae family. SARS-CoV-2 is able to activate the innate immune response as well asthe adaptive one. The complement system is a set of plasma and membrane proteins involvedin innate immunity. It involves protein C3 which is the central component of the three activationpathways of this system; whose roles are diverse: Formation of the membrane attack complex(MAC) responsible for the lysis of pathogens, recruitment of phagocytes, opsonization and increased phagocytosis with amplification of the inflammatory response, destruction of infectious agents, elimination of immune complexes, and control of the specific immune response. The complement molecule C3 is an essential component of the host's immune response against viral infections. C3 is part of the β2-globulin fraction (6 to 13 g/L) defined onthe electropherogram. Nevertheless, the activation of complement and the uncontrolledincrease in inflammation via the amplification of danger signals against antigens has direct cytotoxic effects; such recently reported evidence for complement deposition in SARS-CoV-2damaged lung microcirculation, further supporting the idea that in severe cases of COVID-19 complement activation is a primary player , generating destructive hemorrhagic tissue damagesuch as capillarity's, clots, and hyper inflammation, which is partly the cause of the pathologicalaggravation. Therefore, the investigation of the C3 molecule of complement represents an element of wide scientific relevance in the case of covid-19 infection.

Objectives: The purpose of this study is to qualitatively and quantitatively assess serum levelsof the C3 molecule in subjects with covid-19 infection at compared to uninfected healthy subjects.

Aim: To assess the circulating levels of the complement molecule C3, in subjects with COVID-19 compared to healthy subjects, during the first week of infection. Moreover, to determinate total protein concentrations in serum.

Materials and methods: A population of 20 patients (6 men and 14 women) with an averageage of (47.9 years), suffering from SARS-CoV-2 or COVID-19 (serologic test, positive IgM) and 20 matched healthy controls (6 men and 16 women) of average age (47.8 years) were selected for this study. These patients are chosen from a sample of patients recruited from thebiomedical analysis laboratories of hospitals and private hospitals in the cities of Médéa and Blida (Franz Fanon Hospital), Algeria.

Results: Electrophoretic fractionation by zone electrophoresis showed the presence of a mixture of proteins on the electropherogram that are qualitatively and quantitatively close in patients compared to controls. Circulating serum protein levels are slightly lower in patients infected with sars-cov-2 compared to uninfected healthy controls. However, the differences are not significant ($p=0.715$; $p>0.05$).

Conclusions: Our study concludes the presence of a mixture of qualitatively and quantitatively comparable proteins in patients with SARS-Cov-2 infection (positive serological test, IgM +) compared to healthy controls; results revealed by zone electrophoresis. Moreover, the circulating

levels of total serum proteins are slightly different in the two groups studied. Notwithstanding, the differences do not show statistical significance by applying the Student'sT test (p value < 0.05).

Keywords: Sars-Cov-2, COVID-19, Complement system, Complement C3, β2-globulin, Total protein.

مقدمة:

مرض فيروس كورونا 2019 هو عدوى فيروسيى تنفسية ظهرت في عام 2019 في ووهان ،في الضين .الفيروس المسؤول عن ذلك هو SARS-CoV-2 ،الذي ينتمي ال عائلة Coronavidae . SARS-CoV-2 قادر على تنشيط الااستجابة المناعية الفطرية وكذلك الاستجابة التكيفية.النظام التكميلي عبارة عن مجموعة من بروتينات البلازما والغشاء تشرك في المناعة الفطرية .يتضمن البروتينو C3 وهو المكون المركزي لمسارات التنشيط الثلاثة لهذا النظام ،تتنوع ادوارها في: تكوين مجمع الهجوم الغشائي(MAC) المسؤول عن تحلل مسببات الامراض،وتجنيد الخلايا البلعمية ،والقضاء على المجمعات المناعية ،والتحكم في الاستجابة المناعية المحددة .وبالتالي ،يعد C3مكونا اساسيا للاستجابة المناعيى للمضيف ضد الالتهابات الفيروسية . ومع ذلك ،فان تنشيط المكمل وزيادة الالتهاب الغير المنضبط عن طريق تضخيم اشارات الخطر ضد المستضدات له تاثيرات سامة للخلايا مباشرة ،مثل هذه الادلة التي تم الابلاغ عنها مؤخرا على ترسب المكمل في SARS-CoV-2 التالفة في دوران الوعية الدقيقة في الرئة ،مما يدعم ايضا فكرة انه في الحالات الشديدة من COVID-19 يكون تنشيط المكمل لاعبا أساسيا،مما يؤدي ال تلف الانسجة النزفية المدمرة مثل التهاب الشعيرات الدموية والجلطات والالتهاب المفرط،وهو سبب جزئي للتفاقم المرضي.

لذلك ، يمثل التحقيق في الجزيء التكميلي C3 عنصرًا ذا صلة علمية واسعة في حالة الإصابة بفيروس covid-19.

الأهداف: الغرض من هذه الدراسة هو التقييم النوعي والكمي لمستويات المصل لجزيء C3 في الأشخاص المصابين بعدوى كوفيد -19 مقارنة بالأشخاص الأصحاء غير المصابين.

الهدف: تقييم المستويات المتداولة للجزيء التكميلي C3 ، في الأشخاص المصابين بـ COVID- 19 مقارنة بالأشخاص الأصحاء ، خلال الأسبوع الأول من الإصابة. ولتحديد تركيزات البروتين توتا في مصل الدم.

المواد والطرق: مجموعة من 20 مريضًا (6 رجال و 14 امرأة) بمتوسط عمر (47.9 عامًا) ، يعانون من SARS-CoV-2 أو COVID-19اختبار مصلي ، IgMإيجابي و 20 عنصر تحكم صحي متطابق(تم اختيار 6 رجال و 16 امرأة) متوسط العمر (47.8 سنة) لهذه الدراسة .يتم اختيار هؤلاء المرضى من عينة من المرضى تم تجنيدهم من مختبرات التحاليل الطبية الحيوية في المستشفيات والمستشفيات الخاصة في مدينتي ميديا والبليدة (مستشفى فرانز فانون) بالجزائر.

النتائج: أظهر التجزيء الكهربي بالرحلان الكهربي للمنطقة وجود خليط من البروتينات على مخطط الكهربي الكهربائي متقاربة نوعيًا وكميًا في المرضى مقارنةً بالضوابط. تكون مستويات بروتين المصل المنتشرة أقل قليلاً في المرضى المصابين بـ sars-cov-2 مقارنةً بالضوابط الصحية غير المصابة. لكن الاختلافات ليست كبيرة (p = 0.715 ؛ p> 0.05).

الاستنتاجات: خلصت دراستنا إلى وجود مزيج من البروتينات القابلة للمقارنة نوعياً وكمياً في المرضى المصابين بعدوى SARS-Cov-2 (اختبار مصلي إيجابي ، IgM +) مقارنةً بالضوابط الصحية ؛ كشفت النتائج عن طريق الرحلان الكهربائي للمنطقة. علاوة على ذلك ، تختلف المستويات المتداولة لبروتينات المصل الكلية اختلافًا طفيفًا في المجموعتين المدروستين. على الرغم من ذلك ، لا تظهر الفروق دلالة إحصائية من خلال تطبيق اختبار T للطالب (قيمة p <0.05).

الكلمات المفتاحية: Sars-Cov-2, COVID-19, Système du complément, Complément C3, β2- globulin Protéines totals.

AVANT-PROPOS

Ce travail a pour objectif d'étudier était d'évaluer qualitativement et quantitativement les taux sériques de la molécule C3 chez les sujets infectés par le covid-19 par rapport aux sujets sains non infectés. Il a été réalisé au Laboratoire de Biologie et pharmacologie expérimentales, sous la direction du docteur Meziane Warda.

Le présent mémoire est structuré en six chapitres : Revues de la littérature, Matériels et méthodes, Résultats et interprétation, Discussion, Conclusions et Perspectives, Bibliographie. Il s'inscrit dans le cadre de ma formation universitaire pour l'obtention du grade de Master II de biologie moléculaire et cellulaire, option : immunologie et maladies infectieuses.

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Représentation schématique de la taxonomie des coronaviridae. 20
Figure 2:Résultat d'un test rapide antigénique pour le dépistage du SARS-CoV-2 (positif et négatif). 24
Figure 3: Représentation schématique de la morphologie du SARS-CoV-2. 26
Figure 4:L'organisation génomique du SARS-CoV-2 (Kirtipal, Bharadwaj and Kang, 2020).27
Figure 5:Schéma représente la structure et les domaines de la protéine N. 28
Figure 6:Le mécanisme d'entrée virale du SRAS-CoV-2 dans la cellule hôte. 35
Figure 7: Les deux voies d'entrée du SARS-CoV-2. 36
Figure 8:graphe représente la vitesse de propagation des 4 variante de SARS-CoV-2 sur période de 100 jours (He et al., 2021). 38
Figure 9: Schéma représente les voies du système du complément et des protéines régulatrices (Ling and Murali, 2019). 49
Figure 10: SARS-CoV-2 et activation du complément conduisant à des réactions hyperinflammatoires immunitaires et entraînant une pathologie humaine. 53
Figure 11: Représentation schématique de la structure de molécule C3. 56

LISTE DES ABREVIATIONS

HCOV	Coronavirus humains
SARS-COV-2	Le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère
MERS-COV	Middle East respiratory syndrome coronavirus
TGEV	Le coronavirus de la gastro-entérite transmissible povine
PEDV	Porcine epidemic diarrhea virus
PRCV	Coronavirus respiratoire povin
MHV	Le coronavirus de l'hépatite de la souris
BCoV	Le coronavirus bovin
OMS	Organisation mondiale de la santé
RT-PCR	Real-time reverse transcription-polymérase Chain réaction
TDR	Test de diagnostic rapide
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
CMIA	Chemibiminscent microparticule immunossays
RBD-S	La protéine RBD-S (receptor – binding s)
ARNg	Acide ribonocleique génomique
ORF1 a/b	Open reading frame
NTD	Domaine N-terminal
CTD	Domaine carboxyl terminal
LKR	Domaine ou region de laison a l'ARN
IFN	Interféron
ACE2	Enzyme de conversion de l'angiotensine2
RBD	Receptor binding domaine
TMPRSS2	Tansembrane protéase , sérine sub family member 2
3CLPRO	La protéase de type 3C
PLPRO	La protéase de type papaïne
RDRP	ARN polymérase ARN-dépendante
RTC	Complexe de réplication et de transcription
NSP	Protéine non structurelle
DMV	Vésicule a double membrane
ERGIC	The ER-Golgi intermediate compartiment

TLR	Toll-Like receptor
CMH	Complexe majors d'histocompatibilité
PRR	Pattern recognition receptors
NF-kB	Nuclear factor kappa B
MyD88	Myeloid differentiation factor 88
IRF-3	Interferon regulatory factor 3

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1:Classification, taxonomie, génome et la taille des coronavirus humains (HCoV). 20
Tableau 2:les nombre de cas positive de covid-19 dans différents continentes. 21
Tableau 3: Interprétation clinique des résultats des tests diagnostiques..... 25
Tableau 4:description de diverses protéines non structurelles du SARS-CoV-2. 33

Table des matières

Résumé 2
Abstract Introduction: 4
LISTE DES FIGURES....8
LISTE DES ABREVIATIONS....9
Introduction....15
Chapitre 1. Revue de la littérature....17
1.1. Définition....17
1.2. Historique....17
1.3. Origine....19
1.4. Classification et Taxonomie....19
1.5. Épidémiologie....20
1.5.1. Répartition mondiale....20
1.5.2. Répartition national....21
1.6. Mode de transmission....21
1.7. Diagnostic....22
1.7.1. Test moléculaire....22
1.7.1.2. Tests Antigéniques....23
1.7.1.3. Test Sérologique....24
2. L'agent pathogène (SARS-CoV-2)....25
2.1. Morphologie du SARS-CoV-2....25
2.2. Structure....26
2.2.1. Génome virale....26
2.2.2. Organisation du génome....26
2.2.3. Protéines structurales....27
2.2.3.1. La protéine N....27
2.2.3.2. La protéine E....28
2.2.3.3. La protéine M....29
2.2.3.4. La protéine s....30
2.2.3.5. Les protéines non structurales....31
3. L'entrée de SARS-CoV-2 et cycle de réplication....34
3.1. L'entrée du SARS-CoV-2 dans la cellule hôte....34
3.2. La voie d'entrée via la surface cellulaire....34
3.3. La voie d'entrée via les endosomes....35
3.4. Réplication génomique et la synthèse des protéines virales....36
4. Les mutations génomiques et les variantes de SARS-CoV-2....37
4.1. Mutation....37

4.2. Lignées et les variantes 37
4.3. Le variant actuelle omicron 38
5. La réponse immunitaire contre l'infection par SARS-CoV-2 38
5.1. La réponse immunitaire innée 39
5.1.1. Tempête de cytokines et inflammation 39
5.2. Les éléments du système immunitaire innée et le COVID-19 40
5.2.1. TLRs et le SARS-CoV-2 40
5.2.2. Neutrophiles et COVID 41
5.2.3. Monocytes et macrophages 41
5.3. Réponse immunitaire adaptative 42
5.3.1. Lymphocytes B et immunité humorale contre le SRAS-CoV-2 42
5.3.2. Réponse immunitaire adaptative 43
5.3.3. Lymphocytes B mémoire 44
5.3.4. Lymphocytes T et immunité cellulaire contre le SARS-CoV-2 44
• Les lymphocytes T CD4+ 44
• Les lymphocytes T CD8+ 45
5.4. La mémoire immunologique des lymphocytes T 46
5.5. COVID-19 et anomalies des lymphocytes T (lymphopénie) 46
6. Le système de complément et le sars-cov-2 47
6.1. Le système de complément 47
6.2. Les voies d'activation du Complément 47
6.2.1. La voie classique 47
6.2.2. La voie des lectines 48
6.2.3. La voie alterne 48
6.3. La régulation de système de complément 49
6.4. Complément et inflammation 50
6.5. Le système de complément contre la SARS-CoV-2 50
6.6. Les effets combinés de l'activation du complément dans le COVID-19 51
6.7. Activation du complément médiée par le SARS-CoV-2 53
- La voie des lectines 53
- La voie classique 54
6.8. La molécule C3 de système de complément 54
6.9. La structure de molécule C3 55
6.10. Impact d'activation des molécule C3 de système du complément médiées par le SRAS-CoV-2 56
7. Impact des inhibiteurs de molécule C3 sur les lésions tissulaires et l'inflammation 57
8. Traitement avec l'inhibiteur C3 à base de compstatine AMY-101 57
Chapitre 2. Matériels et méthodes 59
1. Patients et témoins 59
2. Prélèvement sanguins 59
3. 1ér étape : dosage des protéines totales : méthode du biuret 59

3.1. Principe 59
3.2. Technique :.....59
3.3. Matériels : 60
3.4. Résultat 60
3.5. Mode opératoire 60
4. 2éme étape : Electrophorèse des zones protéiques « HELENA ».....61
5. Technique de l'électrophorèse des protéines sérique 62
5.1. Principe 62
5.2. Matériels.....62
5.3. Réactifs 63
5.4. Mode opératoire 63
Chapitre 3. Résultats et interprétations 69
Chapitre 4. Discussion 71
Chapitre 5. Conclusions et perspectives.....74
Chapitre 6. Bibliographie.....75

Introduction

Les coronavirus n'étaient pas considérés comme hautement pathogènes pour l'homme avant le début du 21eme siècle. Par la suite, deux coronavirus humains (HCoV) hautement pathogènes, dont le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) et le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV), émergeant de réservoirs animaux, et ont conduit à des épidémies mondiales de pneumonie mortelle chez l'homme avec une morbidité et une mortalité élevées.

L'année 2019 s'est terminée par l'apparition de groupes de patients atteints de pneumonie de cause inconnue à Wuhan, en Chine. Les résultats des enquêtes ont conduit à l'identification d'un nouveau coronavirus chez les patients atteints (Zhu *et al.*, 2020). Suite à son identification le 7 janvier 2020 par le centre chinois de contrôle et de prévention des maladies, le nouveau virus et la maladie ont été officiellement dénommé SARS-CoV-2 (pour le coronavirus-2 du syndrome respiratoire aigu sévère) et COVID-19 (Pour Coronavirus Disease 2019), respectivement, par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et international committee on taxonomy of virus ICTV) (Sohrabi *et al.*, 2020). Le 11 mars 2020, l'OMS a annoncé publiquement l'épidémie de SRAS-CoV-2 comme une pandémie mondiale (Alouane *et al.*, 2020).

L'essentiel de la surmortalité (84 %) est concentré en Asie du Sud-Est, en Europe et dans les Amériques. Les estimations pour une période de 24 mois (2020 et 2021) comprennent une ventilation de la surmortalité par âge et par sexe. Elles confirment que le nombre mondial de décès est plus élevé chez les hommes que chez les femmes (57 % d'hommes, 43 % de femmes) et plus important chez les personnes âgées (plus de 60 ans) et chez les personnes souffrant de comorbidités (D. Wang *et al.*, 2020). Le décompte des décès supplémentaires en chiffres absolus dépend de la taille de la population (*14.9 millions de décès supplémentaires ont été associés à la pandémie de COVID-19 en 2020 et 2021*, no date).

Le virus affecte principalement le système respiratoire provoquant un large panel de présentations cliniques; de l'infection asymptomatique aux formes graves avec SDRA syndrome de détresse respiratoire aigu) nécessitant une prise en charge en réanimation. Des signes d'une infection respiratoire avec fièvre, toux et asthénie sont observés chez la majorité des malades symptomatiques (Zou *et al.*, 2020).

Étant un virus à ARN, les mutations sont habituelles et peuvent engendrer des variantes d'intérêt tel que les variantes Alpha, Bêta, Gamma, Delta ou encore fin Novembre 2021 Omicron. Ces mutations peuvent avoir un impact sur la contagiosité, l'efficacité des vaccins, la sévérité de la maladie ou encore le diagnostic virologique (Xu *et al.*, 2020).

Le SARS-CoV-2 entraine un déséquilibre de la réponse immunitaire innée et acquise avec une sur activation critique du système immunitaire inné conduisant à un syndrome de libération de cytokines, également connu sous le nom de "tempête de cytokines" (Pedersen and Ho, 2020). Le SRAS-CoV-2 entraîne des modifications fonctionnelles et structurelles généralisées de l'endothélium, similaires à celles de l'endothélite. Elles sont déclenchées par des cytokines libérées par le système immunitaire inné et/ou par une infection directe des cellules endothéliales (Maccio *et al.*, 2021).

Le complément fait partie intégrante de la réponse immunitaire innée aux virus et est un instigateur des réponses pro-inflammatoires. Une étude récente sur le SRAS-CoV, qui est étroitement lié au SRAS-CoV-2, a révélé que l'activation du composant C3 du complément exacerbe la maladie dans le SDRA associé au SRAS-CoV-2 (Risitano *et al.*, 2020). Aussi, les protéines totales ont depuis longtemps été utilisées en médecine afin de détecter des états inflammatoires (D.L. Dungworth 1985; J.J. Kaneko 1997). Les valeurs ainsi obtenues sont souvent complétées par un profil électrophorétique permettant de préciser quelles fractions de protéines ont vu leur concentration modifiée et ainsi essayer de préciserl'affection en cause. La molécule C3 du complément en est un élément essentiel de la réponse immunitaire de l'hôte contre les infections virales. C3 fait partie de la fraction β2-globulines (6à 13 g/L) définie sur l'electrophoregramme et le profil des fractions protéiques sériques.

La pandémie qui s'est déclenchée dans les premiers mois de 2020 dans le monde entier a déclenché une ruée sans précédent vers des centaines d'essais cliniques évaluant à la fois des médicaments approuvés ou homologués et des agents expérimentaux (Kalil, 2020).Tous ces essais cliniques sont basés sur le cycle de vie viral, de l'attachement et de l'entrée dans la cellule hôte, la traduction, la réplication et la libération, et les dommages ultérieurs résultant de l'affaiblissement du système immunitaire (Sanders *et al.*, 2020).

Dans la présente étude, l'objectif principal est d''évaluer les taux des sériques des protéines totales et aussi de déterminer les taux de la molécule C3 du complément par technique d'analyse de l'électrophorèse de zone ; chez des sujets testés positifs à la présence de l'infection à SARS-CoV-2 (Test sérologique, IgM positif). L'étude expérimentale a été conduite au sein des laboratoires Pédagogique et de Recherche « laboratoire biologie et pharmacie expérimentales », Université de Médéa.

Chapitre 1. Revue de la littérature

Rappels virologiques (maladie de covid-19)

1.1. Définition

Le 7 janvier 2020, l'analyse moléculaire a montré un nouveau béta-coronavirus récemment identifié, le coronavirus-2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2), est l'agent étiologique de la maladie COVID-19 que rapidement propagé au tout de monde, avec un taux de mortalité 4 à 12%.

1.2. Historique

Le premier coronavirus aperçu est le coronavirus de la bronchite infectieuse aviaire qui a été observé pour la première fois dans le Dakota du Nord (Etats-Unis) en 1930. Il provoque un type de détresse respiratoire aiguë chez les volailles qui est caractérisé par une contagiosité très élevée, une toux, une baisse significative de la production d'œufs, une détérioration de la qualité des œufs, et une mortalité élevée chez les jeunes poussins (Santana-Clavijo and Brandão, 2021). Par la suite, en 1937, deux chercheurs américains Fred Robert Beaudette et Charles Bannus Hudson de l'université Rutgers, ont annoncé dans le Journal of the American Veterinary Medical Association qu'ils avaient réussi à isoler et à cultiver l'agent pathogène responsable de la bronchite infectieuse (Santana-Clavijo and Brandão, 2021).
En 1946, le virus de la gastroentérite transmissible du porc est identifié. Des années plus tard (1949-1951), une équipe des chercheurs du Rockefeller Institute (New York) avec une équipe londonienne découvrent une infection des souris qui peut provoquer une hépatite ou une encéphalite due au virus de l'hépatite murine (Santana-Clavijo and Brandão, 2021).

Cependant, le lien entre ces maladies, affectant les poulets, les porcs et les souris, n'a pas été déterminé, et il n'a pas été prouvé que ces trois pathologies aient été causées à des virus appartenant à une même famille. Par conséquent, il a fallu attendre la découverte des premiers coronavirus humains (HCOV) pour que ces virus animaux et humains soient classés dans la même famille (Santana-Clavijo and Brandão, 2021).

En 1960, Kendall, Malcom Byone et David Tyrrell qui travaillent à l'Unité du rhume du British Médical Research Council, ont isolé une souche virale nommée B81 à partir d'échantillon respiratoire d'un écolier atteint d'un rhume, néanmoins, le virus n'a pas pu être cultivé à l'aide des techniques standard qui avaient permis de cultiver avec succès des virus du rhume connus (Nimesh *et al.*, 2020). Cinq ans plus tard, en 1965, les chercheurs britanniques David Tyrrell et Malcolm Byone ont réussi à cultiver le nouveau virus en le faisant passer en série dans des cultures d'organes de la trachée d'embryons humains. Ainsi, lorsque le virus isolé est inoculé à des volontaires par voie intranasale, a provoqué un rhume et a été inactivé par l'éther.

En effet, l'éther est un solvant des lipides ce qui indique que le virus possède une enveloppe lipidique. L'année suivante, en 1966, deux chercheurs à l'université de Chicago, Dorothy Hamre et John Procknow, ont révélé qu'ils avaient cultivé un virus sur des cultures de cellules rénales embryonnaires humaines inoculées avec des prélèvements respiratoires d'étudiants en médecine enrhumés. Ce virus désigné HCoV 229E, est morphologiquement similaire au coronavirus humain B814 et à la bronchite infectieuse aviaire. Et semblablementà B814, le 3 virus 229E a montré une sensibilité à l'éther, de plus son matériel génétique est constitué d'ARN (Acide Ribonucléique). Par la suite, le virus HCoV 229E est devenu une « souche prototype » pour toute une série de travaux ultérieurs, contrairement à la souche B814 qui n'a pas eu une grande célébrité, et elle n'a pas été conservée au fil du temps (Santana- Clavijo and Brandão, 2021) (Nimesh *et al.*, 2020).

En 1967, Kenneth McIntosh et ses collègues de la National Institutes of Health ont découvert aux États-Unis une autre souche, appelée HCoV OC43. Ce virus a été cultivé sur des cellules de trachée humaine. Cette équipe a également notifié l'isolement d'autres virus sensibles à l'éther à partir d'échantillons de l'appareil respiratoire. Tous ces virus sont désignés OC (Organ Cultures) ce qui signifie que leur croissance a été réalisée à l'aide de cultures cellulaires provenant de divers organes (Santana-Clavijo and Brandão, 2021).

Ainsi, il a été constaté que les virus de la bronchite infectieuse aviaire, de la gastroentérite du porc et de l'hépatite murine présentent en microscopie électronique (ME) une morphologie caractéristique « aspect en couronne ». Pour cette raison qu'en 1968, ces virus ont été reconnus en tant que groupe taxonomique distinct sous la dénomination de « coronavirus » (Santana-Clavijo and Brandão, 2021). D'ailleurs, puisque ces virus étaient peu pathogènes cette famille de virus a attiré un intérêt minable en médecine humaine. Ce n'est qu'en 2002 que le premier coronavirus hautement pathogène SARS-CoV-1 a fait son apparition dans le delta de la Rivière des Perles (Guangdong, Sud de la Chine), puis s'est propagé rapidement à travers le monde. Ce virus a été responsable d'une épidémie de syndromes respiratoires aigus sévères. Et puis, le coronavirus humain NL63 a été décrit en 2004 aux Pays-Bas et enfin HKU1 a été découvert en 2005 à Hong-Kong (Bonnin, no date) (Bonny *et al.*, 2020).

En septembre 2012, un coronavirus nommé MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus) isolé chez un patient âgé de 60 atteint d'une pneumonie sévère a émergé le Moyen-Orient débuté à Djeddah en Arabie Saoudite (Santana-Clavijo and Brandão, 2021). En décembre 2019, un nouveau coronavirus était identifié dans la ville de Wuhan, province de Hubei en Chine, chez des patients qui présentaient des pneumopathies sévères inexpliquées. Puis en février 2020, l'OMS attribua le nom de COVID-19 pour désigner la

maladie causée par ce virus, initialement appelé nCoV-2019, puis SARS-CoV-2 par le comité international de taxonomie des virus (Bonny *et al.*, 2020)

1.3. Origine

Un facteur inconnu qui continue d'être étudié est la reconnaissance de l'origine zoonotique dudit virus, mais en raison de sa similitude étroite avec les coronavirus de chauve-souris, il est probable que ceux-ci soient le principal réservoir du virus, car avec la réapparition de ce nouveau la classe des décoronavirus a mené diverses études et il a été découvert que le 2019-nCoV est identique à 96 % au niveau du génome à un coronavirus de chauve-souris ; la même étude a révélé que ledit virus appartient à l'espèce SARS-CoV15. C'est tout comme il est supposé que le SRAS-CoV a été transmis aux humains par des animaux exotiques sur les marchés lors de l'épidémie il y a 18 ans, tandis que le MERS-CoV a été transmis des chameaux aux humains. Des rapports ont documenté que bon nombre des premiers patients identifiés avaient été en contact avec un marché de fruits de mer et d'animaux comme facteur commun (Palacios Cruz *et al.*, 2021).

1.4. Classification et Taxonomie

En 1975, le Comité International de Nomenclature des Virus a approuvé la création d'une famille nouvelle. La famille des Coronaviridae elle-même appartient à l'ordre des Nidovirale qui comprend deux sous-familles, les Coronavirinae et les Torovirinae (Kin and Vabret, 2016) (Lefeuvre, Przyrowski and Apaire-Marchais, 2020, p. 2).
Selon la taxonomie actuelle, la sous-famille Coronavirinae est subdivisé en quatre genres nommés Alpha-, Beta-, Gamma- et Deltacoronavirus (Lefeuvre, Przyrowski and Apaire-Marchais, 2020).

Les alpha et béta coronavirus infectent les mammifères, les gamma coronavirus infectent les espèces aviaires et les delta coronavirus infectent à la fois les espèces mammifères et aviaires. Les alphacoronavirus représentatifs comprennent le coronavirus humain NL63 (HCoV-NL63), le coronavirus de la gastro-entérite transmissible porcine (TGEV), le PEDV et le coronavirus respiratoire porcin (PRCV). Les bétacoronavirus représentatifs comprennent le SRAS-CoV, le MERS-CoV, le coronavirus de chauve-souris HKU4, le coronavirus de l'hépatite de la souris (MHV), le coronavirus bovin (BCoV) et le coronavirus humain OC43. Les gamma et deltacoronavirus représentatifs comprennent respectivement le coronavirus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV) et le deltacoronavirus porcin (PdCV) (Hozhabri *et al.*, 2020).

Coronavirus humains (HCoV)	
Type : **Virus**	
Ordre :**Nidovirales**	
Sous-ordre : **Coronavirinaeae**	
Famille : **coronaviridae**	
Sous – famille : **orthocoronavirinae**	
Genres : . **Alpha-coronavirus** : HCoV-229E et HCoV-NL63 . **Beta-coronavirus** : **Clade A** : HCoV-OC43 et HCoV-HKU1 **Clade B** : SARS-CoV **Clade C** : MERS-CoV	
Génome : ARN monocaténaire linéaire de polarité positive (27 à 32 Kb)	**Taille** : 80 à 200 nm

Activer W
Accédez aux

Tableau 1:Classification, taxonomie, génome et la taille des coronavirus humains (HCoV).

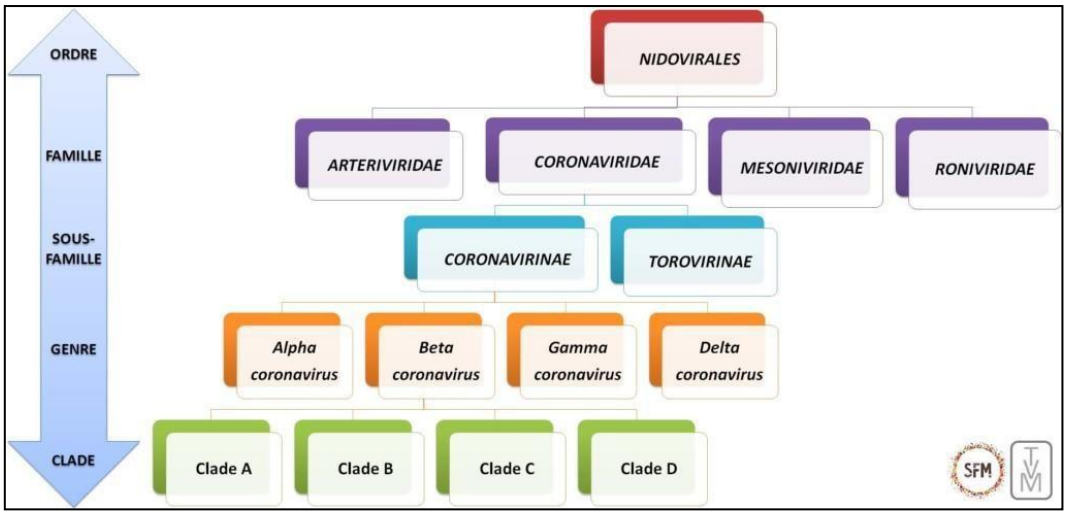


Figure 1: Représentation schématique de la taxonomie des coronaviridae.

1.5. Épidémiologie

1.5.1. Répartition mondiale

Les cas COVID-19 se sont propagés rapidement dans le monde, c'est pourquoi l'OMS a déclaré la maladie COVID-19 comme une pandémie. En fait, dans certains pays comme la chine continentale en 7 juin 2022 (886000 des cas et 5226 décès) et Italie (17.6million des cas et 167000 décès) et Etats-Unis (85.4million des cas et 1.01million décès) et dans le monde (535 millions des cas et 6.31 millions décès).

Continent	Nombre de cas positif au COVID -19	Nombre de décès au COVID-19
Amérique du nord	89 378 000	1 051 000
Océanie	9600856	11895
Asie	43400000	525100
Afrique	8 877 980	171 954
Europe	200917000	2 000 141

Tableau 2:les nombre de cas positive de covid-19 dans différents continentes.

1.5.2. Répartition national

Dès la déclaration relative à ce nouveau virus autant qu'une pandémie, l'Algérie a développé son plan national de surveillance et de riposte.

C'est ici que le premier cas de coronavirus a été identifié. Le 25 février, le ministre de la santé algérien, Abderrahmane Ben Bouzid, a annoncé au journal télévisé qu'un Italien, originaire de Lombardie, l'une des zones les plus touchées en Italie, salarié d'ENI et arrivé sur la base le 18 février. Jusqu'au 10 juin 2022, l'Algérie avait enregistré un total de 266000 cas de COVID-19 ET 6875 décès (*Le Monde.fr*, 2020, p. 19).

1.6. Mode de transmission

Comprendre le mode, l'heure et le type de transmission du SARS-CoV-2 est essentiel pour le développement des mesures efficaces de santé publique et de prévention des infections visant à briser la chaîne de transmission.

Le SARS-CoV-2 se transmet principalement d'une personne à l'autre par contact direct, indirect ou étroit par les gouttelettes respiratoires, la salive ou par les sécrétions respiratoires, soit en étant inhalé, soit en se déposant sur les surfaces muqueuses, y compris les aérosols produits lors de la toux et de la parole. Le virus peut être transmis indirectement en touchant une surface ou un objet préalablement contaminé par le virus, puis en se touchant le visage, les yeux ou la bouche. Il est à noter que la transmission par contact avec les objets contaminés est considérée comme possible, bien qu'on n'ait pas isolé de virus cultivable en situation réelle. Le virus peut également être transmis dans des espaces intérieurs mal ventilés et/ou bondés, où l'on a tendance à rester plus longtemps, car les aérosols restent en suspension dans l'air ou se déplacent sur des distances supérieures à un mètre (longue distance).

La propagation du SARS-CoV-2 se produit principalement chez les personnes symptomatiques, mais elle peut également se produire avant qu'elles ne présentent des symptômes, lorsqu'elles sont en contact avec d'autres personnes pendant des périodes prolongées (*Maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) : comment se transmet la COVID-19 ?*, no date).

1.7. Diagnostic

Les échantillons sanguins et respiratoires, notamment de gorge, oropharyngés et nasaux, et de salive sur des patients suspects sont utilisés comme échantillons cliniques pour la détection des virus respiratoires. Les échantillons sont soumis à des tests moléculaires, sérologiques et antigéniques spécifiques au COVID-19 pour le diagnostic biologique.

Le diagnostic de COVID-19 repose sur un ensemble de critères épidémiologiques (contact pendant la période d'incubation), de symptômes cliniques ainsi que sur des examens biologiques (tests d'amplification des acides nucléiques) et d'imagerie (Kannan *et al.*, 2020)**.**

1.7.1. Test moléculaire

1.7.1.1. La réaction en chaîne par transcription inverse-polymérase (RT- PCR)

Actuellement l'une des méthodes d'analyses biologiques les plus largement utilisées pour détecter, suivre et étudier le virus SARS-CoV -2 (Chan *et al.*, 2020). La méthode utilise des marqueurs fluorescents pour détecter le matériel génétique ciblé. La transcription inverse est un processus dont la transcriptase inverse, ou rétro transcriptase, est une enzyme qui permet de convertir l'ARN en ADN. Ainsi l'ADN peut être amplifié ce qui est un élément-clé du processus RT-PCR en temps réel pour la détection des virus.

Les étapes de ce test se font comme suit : La première étape consiste à rétrotranscrire l'ARN du coronavirus en ADN complémentaire ou ADNc qui sera par la suite amplifié. Cette étape est assurée par une ADN-polymérase-ARN-dépendante qui synthétise le brin d'ADNc simple brin à partir de la matrice ARN. Le second brin est synthétisé grâce à une amorce et une ADN polymérase, à partir de là, les étapes sont les mêmes qu'une PCR. Un cycle de PCR se compose des étapes suivantes : La première étape est la dénaturation. Classiquement, il s'agit de chauffer l'échantillon pendant 10 à 15 minutes à 95 °C. Lors de cette étape, les deux brins de l'ADNc se séparent.

La deuxième étape est l'hybridation. Elle se déroule à une température comprise entre 50 et 60 °C, les amorces sont de courtes séquences ADN qui se fixent spécifiquement à l'ADN à amplifier. Les amorces fonctionnent par paires : une sens et une anti-sens. L'amorce sens (5'-3') servira de base pour l'élongation du brin anti-sens et l'amorce anti-sens (3'-5') servira de base pour l'élongation du brin sens (5'-3'). La température de cette étape est choisie en fonction du Tm des amorces qui dépendent de leur séquence.

La troisième étape est L'élongation. Elle est réalisée classiquement par l'enzyme, la Taq polymérase, qui est active à 72 °C. La Taq polymérase se fixe à l'amorce et synthétise un brin d'ADN complémentaire à la matrice grâce aux désoxyribonucléotides disponibles dans le milieu. Après cette étape, le cycle reprend du début. Les cycles se succèdent jusqu'à que la

quantité d'amplicon est suffisamment importante pour être détecté. Toutes ces étapes sont totalement automatisées et réalisées dans un appareil appelé thermocycleur.
En règle générale, le test par PCR est positif 1 à 2 jours avant le début des symptômes et dans les deux à trois semaines suivantes.
Parmi les avantages de cette méthode c'est qu'elle se caractérise par une détection rapide et simple, une sensibilité et une spécificité élevées. Le problème avec le test RT-PCR en temps réel est le risque d'obtenir des résultats faux négatifs et faux positifs. Ainsi, un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection au COVID19 et ne doit pas être utilisé comme le seul critère pour les décisions de traitement ou de prise en charge des patients. Il semble que la combinaison de RT-PCR en temps réel et des caractéristiques cliniques facilite la gestion de l'épidémie de SARS-CoV-2 (Tahamtan and Ardebili, 2020).

1.7.1.2. Tests Antigéniques

Les tests de diagnostic rapide (TDR) détectent la présence d'antigènes viraux du SRAS-CoV-2 dans un échantillon oropharyngé ou nasopharyngé ou dans un échantillon de salive d'une personne infectée. Le principe repose en général sur l'immunochromatographie avec une lecture qui peut être soit manuelle soit automatisée. Lorsque l'antigène cible est présent en concentration suffisante, il se lie aux anticorps spécifiques (le plus souvent anti-N) enduits sur une membrane de nitrocellulose dans la cassette de test et produit un signal visuellement détectable. Si les tests basés sur la PCR restent la référence, les tests rapides de détection de l'antigène du SRAS-CoV-2 fournissent des résultats en 10 à 15 minutes, sont souvent utilisés comme substitut pour détecter le SARS-CoV-2 chez les personnes symptomatiques dans les 5 jours suivant le début de la symptomatologie vu que sa sensibilité est généralement inférieure à celle de la RT-PCR (Velavan and Meyer, 2021).

Les tests antigéniques rapides peuvent détecter la présence du SRAS-CoV-2 (y compris les virus variants), ils peuvent contribuer à réduire la transmission grâce à une détection précoce des cas hautement infectieux, permettant de commencer rapidement la recherche des contacts. La rapidité et la commodité des tests antigènes COVID-19 ont conduit à l'autodiagnostic dans les écoles, les bureaux et les universités compte tenu de la plus grande accessibilité des TDR et de la généralisation de l'autotest à domicile, il y a eu des résultats faussement positifs. Lorsque ces faux positifs sont ensuite testés par PCR, ils s'avèrent être de vrais négatifs (Velavan, Pallerla and Kremsner, 2021).

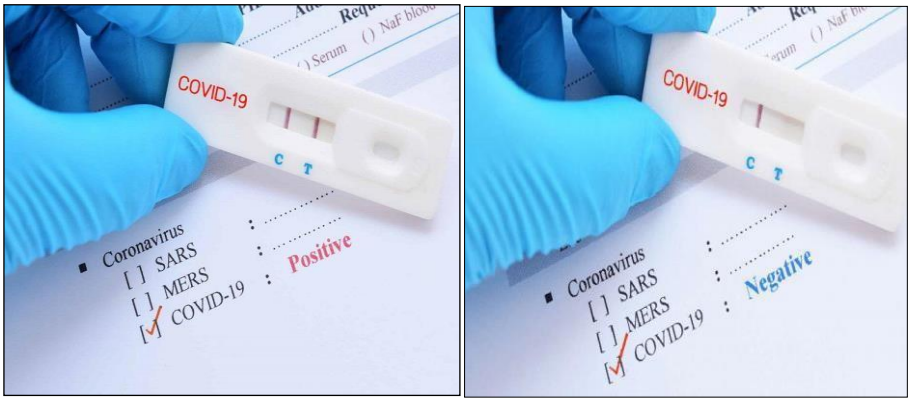


Figure 2:Résultat d'un test rapide antigénique pour le dépistage du SARS-CoV-2 (positif et négatif).

1.7.1.3. Test Sérologique

L'infection par le COVID-19 peut également être détectée indirectement comme diagnostic de rattrapage, en détectant la réponse immunitaire de l'hôte à l'infection par le SARS-CoV-2. Le diagnostic sérologique est également un outil important pour étudier la séroprévalence de la maladie COVID-19 dans la communauté et pour identifier les individus qui sont « immunisés » (anti-Spike neutralisants) et potentiellement "protégés" contre l'infection (Sethuraman, Jeremiah and Ryo, 2020, p. 2).

De nombreux tests automatisables destinés à la détection des anticorps IgG et IgM dirigés contre la protéine de la nucléocapside du SARS-CoV-2 (marqueurs de contact avec le SARS-CoV-2) ou des anti-Spike (corrélés à la séroneutralisation) dans le sérum et le plasma ont été développés et mis sur le marché de type Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ou Chemiluminescent Microparticule Immunoassays (CMIA), par exemple ou immunochromatographique TDR.

Les taux les plus élevés des IgM et des IgG sont observés au cours de la deuxième et de la troisième semaine de la maladie. Ils commencent à se positiver dès le quatrième jour après l'apparition des symptômes. Les IgM commencent ensuite à diminuer à la cinquième semaine et disparaissent presque à la septième semaine, tandis que les IgG persistent au-delà de la septième semaine (Xiao, Gao and Zhang, 2020).

Dans une étude portant sur 140 patients, la sensibilité combinée de la PCR et de la sérologie des IgM dirigées contre les l'antigène de la nucléocapside (NC) était de 98,6 % contre 51,9 % pour un seul test PCR. Au cours des 5,5 premiers jours, le taux de positivité de la PCR quantitative était plus élevé que celui des IgM, tandis que l'IgM avait un 42 taux de positivité plus élevé après le jour 5,5 de la maladie (Guo *et al.*, 2020).

En général, la majorité des anticorps sont produits contre la protéine la plus abondante du virus, à savoir la NC, par conséquent, les tests qui détectent les anticorps contre la NC seraient les plus sensibles. Cependant, la protéine RBD-S (receptor-binding S (RBD-S) est la protéine

D'attachement à l'hôte, et les anticorps contre le RBD-S seraient plus spécifiques et devraient être neutralisants, par conséquent, l'utilisation de l'un ou des deux antigènes pour la détection les IgG et les IgM se traduirait par une sensibilité élevée (To *et al.*, 2020). Les anticorps peuvent toutefois présenter une réactivité croisée avec le SARS-CoV et peut-être d'autres coronavirus.

Le tableau ci-dessous résume les principaux profils clinico-virologiques des situations diagnostic du SARS-CoV-2.

Symptômes	RT-PCR	IgM	IgG	Interprétation
+	+	_	_	Infection aigue
_	+	+	+	Infection aigue
_	+	+/_	_/+	Infection aigue
+	_	+	+	Infection récente
+	_	+/_	+	Infection tardive
_	_	_	+	Infection ancienne ou vaccination
_	_	_	_	Absence d'infection

Tableau 3: Interprétation clinique des résultats des tests diagnostiques.

2. L'agent pathogène (SARS-CoV-2)

2.1. Morphologie du SARS-CoV-2

Comme les autres coronavirus, le SRAS-CoV-2 est un virus enveloppé avec des virions à peu près sphériques ou modérément pléomorphes d'environ 60 à 140 nm de diamètre (Yan *et al.*, 2020, p. 2). La membrane virale contient la glycoprotéine de pointe (S) qui forme les peplomères à la surface du virion, donnant au virus sa morphologie « corona » - ou en forme de couronne au microscope électronique. La glycoprotéine membranaire (M) et la protéine d'enveloppe (E) fournissent la structure cyclique. À l'intérieur du virion se trouve une nucléocapside hélicoïdale composée de la protéine nucléocapside (N) complexée avec un génome d'ARN à simple brin positif, non segmenté, d'environ 30 kb de longueur (Gralinski and Menachery, 2020).

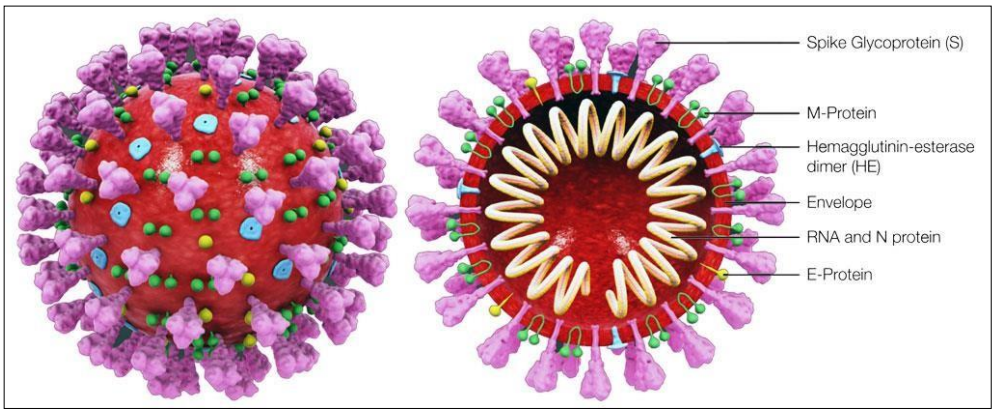


Figure 3: Représentation schématique de la morphologie du SARS-CoV-2.

2.2. Structure

2.2.1. Génome virale

Le génome du coronavirus est le plus grand génome des virus à ARN répertoriés à ce jour, et cette très grande taille du génome permet l'émergence des variantes (Vabret *et al.*, 2009). Le génome du SARS-CoV-2 a une taille qui varie de 29,8 kb à 29,9 kb kb. Il s'agit d'ARN monocaténaire linéaire non segmentée, positivement polarisé, comprenant une région codante, divisé en deux tiers :

- Les deux tiers 5' soit environ 18 à 20kb du génome codent pour un vaste gène réplicase qui sera traduit en deux polyprotéines clivées par la suite en 16 protéines non structurales indispensables à la réplication virale.
- Les deux tiers 3' restant du génome code essentiellement pour les protéines de structures du virus dont 4 glycoprotéines membranaires (Lefeuvre, Przyrowski and Apaire-Marchais, 2020, p. 2).

2.2.2. Organisation du génome

Le génome de SARS-CoV-2 se compose d'un filament d'ARN qui porte 29 981 bases codant pour 9 860 acides aminés qui traduit en 20 protéines, on distingue 4 protéine structurelles et 16 protéine non structurelles (*COVID19 : mutations, variants, lignées, N501Y, E484K… de quoi parleton ?*, no date).

Le génome du SARS-CoV-2 possède une extrémité 5' coiffée et une queue polyadénylée (polyA) en 3' (Figure 4).

L'extrémité 5' contient également une séquence régulatrice de transcription (transcriptional regulatory sequence TRS) leader et une région non traduite (untranslated region UTR) contenant plusieurs structures secondaires nécessaires à la réplication et à la transcription, ces structures sont également présentes dans 3'UTR (Kirtipal, Bharadwaj and Kang, 2020).

L'ordre des gènes est inchangé parmi tous les membres de la famille des coronavirus, et est sous forme 5'-réplicase–S–E–M–N–3' (Figure 4). Chaque gène est précédé d'une séquence

Régulatrice de la transcription TRS nécessaire à l'expression de chacun de ces gènes (Kirtipal, Bharadwaj and Kang, 2020).

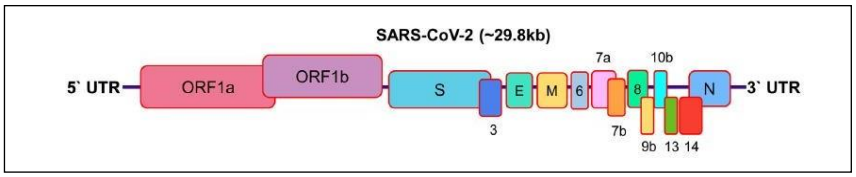


Figure 4:L'organisation génomique du SARS-CoV-2 (Kirtipal, Bharadwaj and Kang, 2020).

D'une part, les deux-tiers 5' de l'ARN viral du SARS-CoV-2 sont constitués de deux cadres de lecture ouverts ou ORF (Open Reading Frame), nommés ORF1a et ORF1b (Figure 4):

- **L'ORF1a** : produit le polypeptide 1a (pp1a, 440-500 kDa) qui est clivé en 11 protéines non structurelles (nsp). Le décalage de cadre de -1 ribosome se produit en amont du codon stop de l'ORF1a, permettant la poursuite de la traduction de l'ORF1b (Kim *et al.*, 2020).
- **L'ORF1b** : produit un grand polypeptide (pp1ab, 740-810 kDa) qui est coupé en 5 nsps, ce clivage protéolytique est médié par les protéases virales nsp3 et nsp5 qui abritent respectivement un domaine protéase de type papaïne et un domaine protéase de type 3C. D'ailleurs, l'ORF1b code le complexe de réplication-transcription qui est médié par nsp12, possédant une activité ARN polymérase ARN-dépendante (RdRP) (Kim *et al.*, 2020)**.**
- **L'ORF1ab** : est le plus grand ORF, il correspondant à la fusion des ORF1a et ORF1b, et permet la traduction de la polyprotéine pp1ab grâce à un noeud de phase efficace à 25%. Cette polyprotéine est ensuite clivée par des protéases virales en 16 nsp nommées nsp1 à nsp16 impliquées dans le complexe de réplication et de transcription des coronavirus (Kim *et al.*, 2020).

D'une autre part, le tiers 3' restant du génome est constitué par au moins quatre cadres de lecture ouverts :

- **L'ORF2, ORF4, ORF5, ORF9 :** codent respectivement les gènes des protéines structurales (S, E, M et N).
- **L'ORF3, ORF6, ORF7, ORF8 et ORF10 :** codent les gènes des protéines accessoires du SARS-CoV-2(Kim *et al.*, 2020).

2.2.3.Protéines structurales

2.2.3.1. La protéine N

La capside virale du SARS-CoV-2 est formée par une nucléoprotéine (N) (419 acides aminés et 45.63 kDa).

La capside est la coque protéique, et à l'intérieur de la capside se trouve une nucléocapside ou protéine N, qui est complexée à l'ARN viral, permettant au virus de détourner les cellules humaines et de les transformer en usines à virus. La protéine N s'enroule autour du génome de l'ARN viral et joue un rôle important dans sa réplication et sa transcription (Boopathi, Poma and Kolandaivel, 2020).

Elle possède trois domaines différents et extrêmement conservés, à savoir un domaine N-terminal (NTD), un domaine de liaison à l'ARN ou une région de liaison (LKR), et un domaine carboxyl-terminal (CTD). Le NTD se lie à l'extrémité 3' du génome viral, peut-être par l'intermédiaire d'interactions électrostatiques, et est très divergente à la fois en longueur et en séquence.

Le LKR peut interagir directement avec l'ARN in vitro et responsable de la transduction du signal cellulaire. Il module également la réponse antivirale de l'hôte en agissant comme un interféron (IFN) et un antagoniste de l'ARN (Kadam *et al.*, 2021).

C'est l'une des questions de recherche ouvertes importantes pour le développement d'un ciblage efficace des médicaments pour empêcher le contact entre l'extrémité N-terminale de la protéine N et un seul brin d'ARN positif qui peut empêcher la réplication et la transcription virale (Boopathi, Poma and Kolandaivel, 2020).

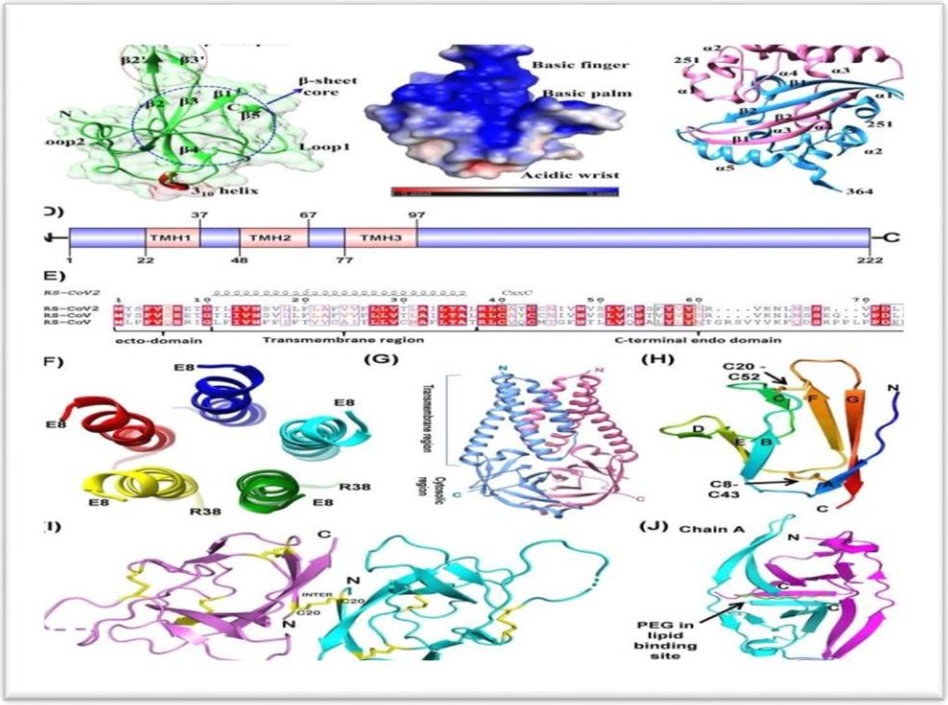


Figure 5:Schéma représente la structure et les domaines de la protéine N.

2.2.3.2. La protéine E

La protéine E du SRAS-CoV-2 est une protéine structurale longue de 75 acides aminés existant à la fois sous forme monomérique et homo-pentamérique (Feng *et al.*, 2020).

Elle possède une extrémité N-terminale courte, suivie d'un domaine transmembranaire hélicoïdal α et un groupe de 2-3 cystéines juxta membranaires puis d'une extrémité C-

Terminale constituant la majorité de la protéine, Alors que le domaine de liaison PDZ (PBD) à l'extrémité C-terminale du polymère d'acides aminés est censé entraver la fonctionnalité de la cellule hôte pour favoriser la réplication et la dissémination virales dans le corps hôte (Tilocca *et al.*, 2020, p. 19).

Elle intervient dans plusieurs processus du cycle de vie du virus, tels que l'assemblage, le bourgeonnement, la formation de l'enveloppe et la pathogénèse. La protéine E a une activité de perméabilisation de la membrane, ce qui pourrait justifier l'inhibition in vitro de l'activité des canaux ioniques de certaines protéines E synthétiques du coronavirus, ainsi que de la réplication virale. Elle agit comme une viroporine et s'auto-assemble dans les membranes de l'hôte en formant des pores protéino-lipidiques pentamériques qui permettent le transport des ions. Elle joue également un rôle dans l'induction de l'apoptose, active l'inflammasome NLRP3 de l'hôte, ce qui entraîne une surproduction d'IL-1 bêta (Tilocca *et al.*, 2020, p. 19).

Outre ses propriétés multifonctionnelles, la protéine E est également hautement immunogène, attirant l'attention de divers groupes de recherche qui ciblent cette protéine pour le développement d'études basées sur l'antigène, y compris celles visant à développer des outils d'immunodiagnostic et des études orientées prophylactique, Plus précisément, les virions dépourvus de protéine E sont associés à une incapacité à infecter la cellule hôte ou à des titres viraux très faibles(Tilocca *et al.*, 2020, p. 19).

2.2.3.3. La protéine M

L'une des protéines structurelles les plus conservées du SRAS-CoV-2 est la protéine M, car elle a un taux de mutation plus faible partageant des similitudes structurelles et fonctionnelles avec les protéines M d'un autre coronavirus, La protéine M est également la protéine structurelle la plus abondante. Protéine jouant un rôle central dans la direction de l'assemblage et du bourgeonnement du virus via l'interaction avec les protéines structurelles E, S et N par le biais d'interactions hétérotypiques, En plus de ces interactions hétérotypiques, la protéine M est fonctionnellement dynamique et peut également acquérir une forme homodimérique (Marques-Pereira *et al.*, 2022).

La protéine M interfère avec la réponse immunologique de l'hôte par l'antagonisme de l'interféron, est impliqué dans l'arrêt du cycle de la cellule hôte, induit un stress du réticulum endoplasmique (RE) et une réponse protéique dépliée, joue un rôle sur l'autophagie induite par le coronavirus et a une fonction antigénique protectrice (Marques-Pereira *et al.*, 2022).

La protéine M est constituée de 223 acides aminés et possède trois domaines principaux : un ecto-domaine N-terminal court, trois hélices transmembranaires (étiquetées TMH1, TMH2 et TMH3) et un long endo-domaine C-terminal situé sur la face cytoplasmique des virions (Marques-Pereira *et al.*, 2022).

2.2.3.4. La protéine s

La protéine S *(Spike)* est une glycoprotéine de grande taille (1273 acides aminés)**,** est une protéine de fusion transmembranaire glycosylée homotrimère de type I responsable de la fixation de la cellule hôte via son domaine de liaison au récepteur (RBD) à l'enzyme de conversion de l'angiotensine humaine 2 (hACE2), qui permet sa pénétration dans les cellules de l'organisme (Feng *et al.*, 2020). Un processus qui est renforcé par un corécepteur, le sulfate d'héparane cellulaire (Torres *et al.*, 2022)

La protéine S est composée par un ectodomaine, une ancre transmembranaire (TM) à passage unique et une queue intracellulaire (IC). Chaque monomère de la protéine S est divisé en deux sous-unités

La sous-unité S1: (résidus 1 à 685) d'attachement "partie globulaire " composée d'un domaine N-terminal (NTD) impliqué dans la fixation des sucres, et d'un domaine C-terminal (CTD) contenant le domaine de liaison au récepteur cellulaire RBD (*Receptor Binding Domain*).

La sous-unité S2: (résidus 686 à 1213) **"**partie en forme de tige " contient les quatre éléments requis pour la fusion membranaire virale ; un peptide de fusion (PF), deux répétitions.

Le RBD et le NTD sont des épitopes immunodominants qui sont ciblés par une majorité d'anticorps neutralisants et des vaccins.

Au cours de l'infection virale, la protéine S trimérique est clivée en sous-unités S1 et S2 par la protéase transmembranaire sérine 2 associée à la surface cellulaire (TMPRSS2) et la cathepsine, les sous-unités S1 sont libérées lors de la transition vers la conformation post-fusion, le domaine de liaison au récepteur (RBD), qui se lie directement au domaine peptidase (PD) de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) et facilite l'attachement viral aux cellules - cibles, La sous-unité S2 est une unité qui intervient dans la fusion des membranes virales et cellulaires, assurant l'entrée virale par endocytose, un processus essentiel à l'infection virale, La protéine S du SRAS-CoV-2 peut également exploiter l'ACE2 pour l'infection de l'hôte (Yan *et al.*, 2020, p. 2).

2.2.3.5. Les protéines non structurales

Les deux tiers de la région génomique virale, c'est-à-dire les 20 kb initiales situés en aval de l'extrémité 5′, occupent le gène de la réplicase appelé cadre de lecture ouvert 1a (ORF1a) et 1b (ORF1b), ces derniers sont traduits en deux polyprotéines (pp1a et pp1ab)(Yadav *et al.*, 2021, p. 19) , qui vont être clivées par des protéases pour former le complexe ARN réplicase-transcriptase, constitué de 16 nsp (ORF1a : nsp1 à 11, ORF1b: nsp12 à 16) (Lefeuvre, Przyrowski and Apaire-Marchais, 2020, p. 2).

Ces protéines non structurelles sont fabriquées uniquement lors du cycle infectieux car elles sont indispensables à la réplication virale. Bien que codées par l'ARN viral, ces protéines non structurales ne sont pas pour autant incorporées dans la structure des particules virales excrétées par les cellules infectées, avec leurs fonctions correspondantes ainsi que d'autres caractéristiques moléculaires associées sont présentées ci-dessous (Yadav *et al.*, 2021, p. 19).

Les protéines Non Structurales	Protéine (Nom complet)	Longueur(aa)	Fonctions
NSP1	Produit N-terminal de la réplicase virale	180	Protéine leader qui agit comme inhibiteur de la traduction de l'hôte et dégrade également les ARNm de l'hôte
NSP2	Produit N-terminal	638	Se lie à la prohibition 1 et à la prohibition 2 (PHB1 et PHB2)
NSP3	Protéinase de type papaïne	1945	Responsable de la libération de NSP1, NSP2 et NSP3 de la région N-terminale de pp1a et 1ab
NSP4	Protéine transmembranaire contenant le domaine transmembranaire 2	500	Complexe viral de réplication-transcription et aide à modifier les membranes ER
NSP5	Protéinase et protéinase Principale	306	Clive sur plusieurs sites distincts pour produire des protéines non structurelles matures et intermédiaires
NSP6	Domaine transmembranaire Putatif	290	
NSP7	ARN polymérase dépendante de l'ARN	83	Forme un complexe avec NSP8 et NSP12 pour produire l'activité ARN polymérase de NSP8
NSP8	Polymérase; réplicase simple brin	198	Fait hétérodimère avec NSP8 et 12
NSP9	Protéine virale de liaison à l'ARN	198	Peut se lier à l'hélicase
NSP10	Protéine possédant deux motifs de liaison au zinc dépendants de l'ARN.	139	Reste à déchiffrer

NSP11	édentique au premier segment de Nsp12	13	Inconnue
NSP12	ARN polymérase dépendante de l'ARN	932	Réplication et méthylation
NSP13	ARN polymérase (Pol/RdRp)	932	Un domaine central d'hélicase qui lie l'ATP. Le domaine de liaison au zinc est impliqué dans la réplication et la transcription
NSP14	Domaine exoribonucléase	527	Activité exoribonucléase agissant dans le sens 3′-5′ et activité N7-guanine méthyltransférase
NSP15	nsp15-A1 and nsp15B-NendoU	346	Activité endoribonucléase dépendante du Mn(2+)
NSP16	2′-O-ribose méthyltransférase	298	Méthyltransférase qui médie la méthylation de la coiffe de l'ARNm 2′-O-ribose sur la structure de la coiffe 5′ des ARNm viraux

Tableau 4:description de diverses protéines non structurelles du SARS-CoV-2.

3. L'entrée de SARS-CoV-2 et cycle de réplication

En tant que micro-organisme intracellulaire obligatoire, le coronavirus exploite la machinerie de la cellule hôte pour sa propre réplication et sa propagation.

Le cycle du virus dans la cellule hôte se répartit en trois grandes étapes : L'entrée du virus dans la cellule hôte, suivie de la réplication du génome et ensuite la libération de nouveaux virions.

3.1. L'entrée du SARS-CoV-2 dans la cellule hôte

La capacité d'un virus à pénétrer dans une cellule hôte pour l'infecter repose sur la reconnaissance des récepteurs de cette dernière exprimée à sa surface. Dans le cas du SRAS-CoV-2, la responsable de la reconnaissance du récepteur cellulaire est la protéine S, qui utilise l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) comme récepteur. L'ACE2 est une métalloprotéase de 805 acides aminés, Il s'agit d'une protéine très fréquemment présente sur les membranes cellulaires, on la retrouve dans des cellules des alvéoles pulmonaires, de l'oesophage, des intestins, du pancréas, des parois artérielles et du cœur, caractérisée comme un contre-régulateur du système rénine-angiotensine-aldostérone responsable du clivage de l'angiotensine I et II en peptides (angiotensine (1-9) et (1-7), respectivement) qui agissent contre les effets vasoconstricteurs/pro-inflammatoires de l'angiotensine produite par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE)(Zhang *et al.*, 2021).

Et étant donné que le SARS-CoV-2 est un virus enveloppé donc après sa liaison initiale au récepteur, l'enveloppe virale doit fusionner avec les membranes de la cellule hôte pour libérer la nucléocapside dans la cellule cible. Cette fusion est stimulée par la protéine S qui subit de larges réarrangements conformationnels en raison du clivage protéolytique médiée par des protéases de surface cellulaire ou des protéases endosomales. En effet, il a été confirmé que le SARS-CoV-2 pénètre la cellule hôte par deux voies distinctes : la voie de la surface cellulaire, la voie endocytique dans les compartiments endosomal-lysosomal (Murgolo *et al.*, 2021). D'ailleurs, la contribution de chaque voie dans un type de cellule donné dépend largement de l'expression de certaines protéases.

3.2. La voie d'entrée via la surface cellulaire

la liaison du domaine de liaison au récepteur (RBD) de la sous-unité S1 de la protéine spike à l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) qui est exprimée à la surface des cellules épithéliales des voies respiratoires et de l'intestin entraine un changement de conformation qui expose la sous unité S2 et permet la fusion membranaire qui nécessite l'activation de la protéine S par le clivage protéolytique réalisée à la surface cellulaire grâce à la protéase membranaire TMPRSS2 (Tansembrane Protease, Serine Subfamily Member 2) au niveau de deux sites(Sophie, 2020, p. 2) : un premier situé au niveau de l'arginine 667 à la jonction entre

S1/S2 qui semble faciliter le second clivage au niveau de l'arginine 797 du site de clivage S2' (Murgolo *et al.*, 2021).

Après la formation du complexe spike-ACE2, ce qui déclenche la fusion membranaire avec la cellule hôte et la libération du génome viral dans les cellules hôtes (Bestle *et al.*, 2020).

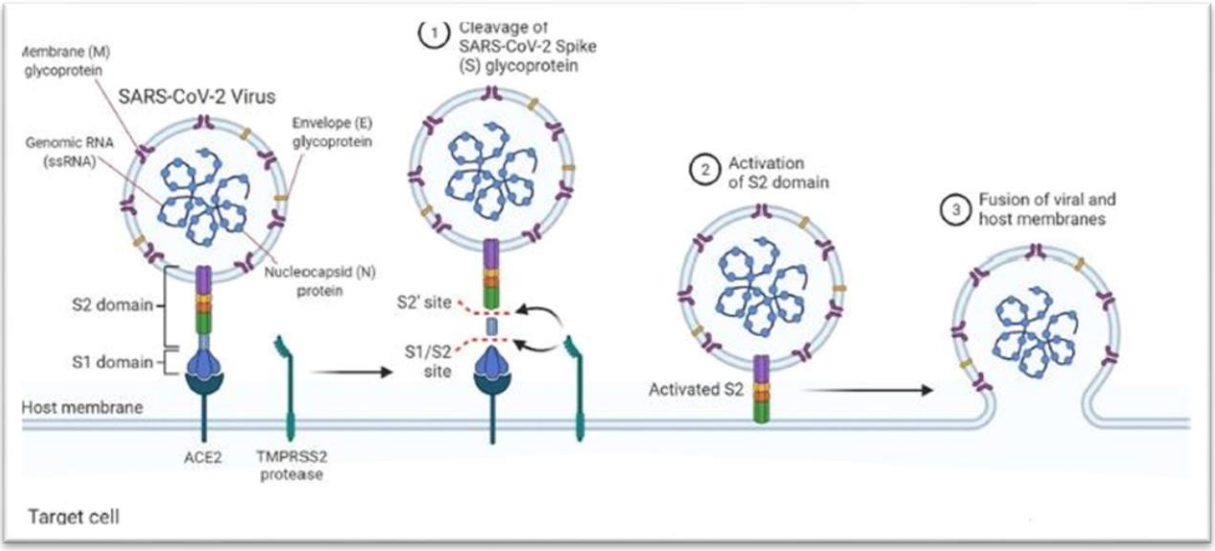


Figure 6:Le mécanisme d'entrée virale du SRAS-CoV-2 dans la cellule hôte.

3.3. La voie d'entrée via les endosomes

Après avoir interagi avec l'ACE2 dans la cellule hôte, le virus peut également entrer dans la cellule via les endosomes c'est-à-dire de vésicules intracellulaires dont l'activité dépend du pH interne, Tout d'abord, la partie S1 de la protéine S se lie à l'ACE2 au niveau de la membrane cellulaire, puis la partie S2 sert de médiateur à la fusion. Cette fusion se produit après que la protéine S est activée par la protéase endosomale cathepsine L à travers un clivage de la frontière S1/S2 et de la position de la S2' (Malone *et al.*, 2022).

En outre, la protéine spike de SARS-CoV-2 comprend un site de clivage compatible avec l'action de la furine une pro-protéine convertase qui permet au sous-unités S1/S2 d'être clivée dès la biosynthèse virale et avant la libération des nouveaux virus dans l'environnement extracellulaire ce qui pourrait majorer le potentiel infectant du virus (Murgolo *et al.*, 2021).

Enfin, l'ARN viral libéré par l'entrée médiée soit par TMPRSS2 ou par les protéases endosomales est répliqué sous forme de copies partielles ou complètes du génome et traduit dans le réticulum endoplasmique (RE) pour former de nouveaux virions SARS-CoV-2(Murgolo *et al.*, 2021).

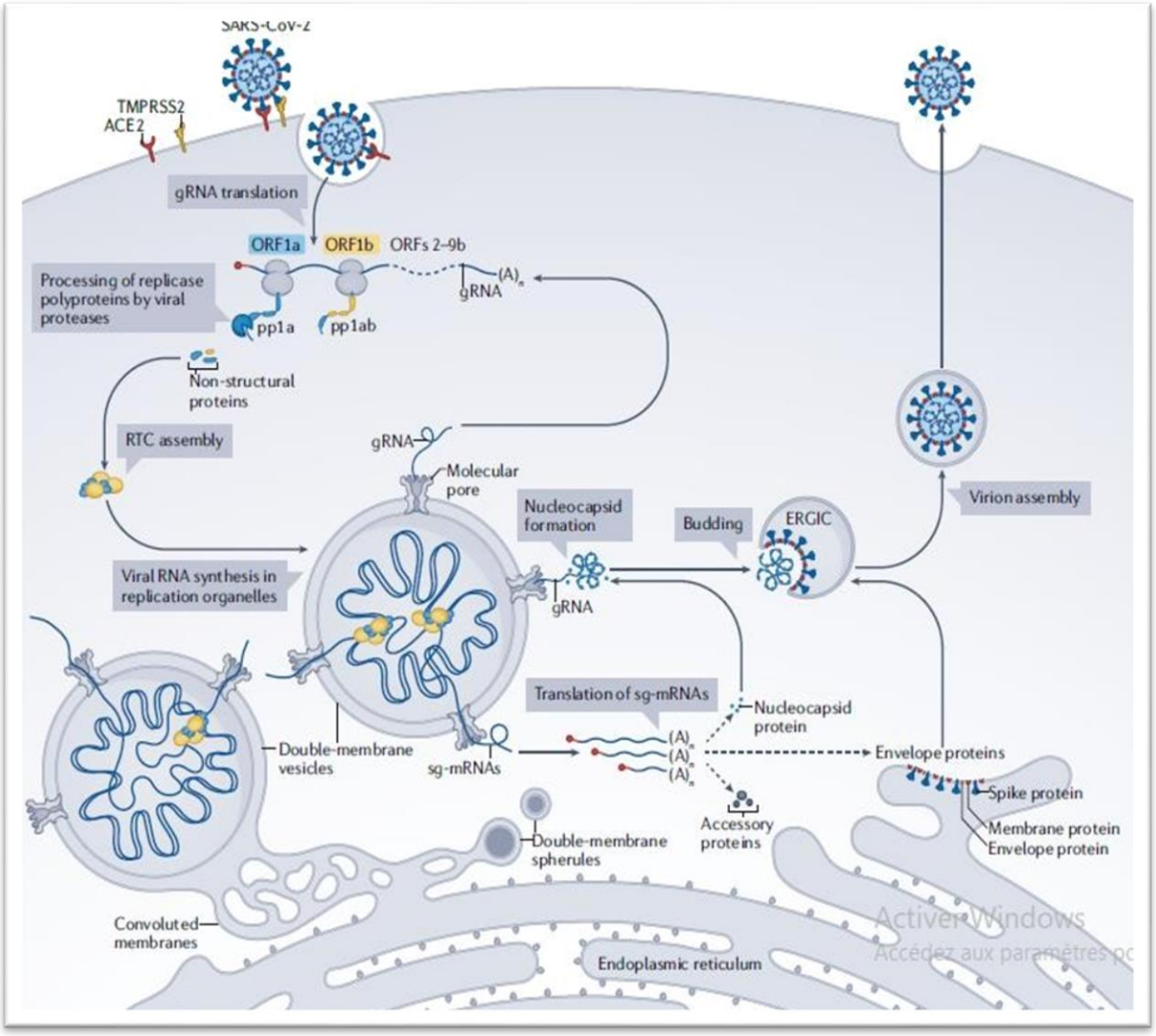


Figure 7: Les deux voies d'entrée du SARS-CoV-2.

3.4. Réplication génomique et la synthèse des protéines virales

La stratégie de réplication des coronavirus diffère de celle des autres virus à ARN unique Chaîne de polarité positive. En fait, toutes les étapes de réplication (transcription l'ARN, la synthèse des protéines virales et l'assemblage des virions) se produisent dans Cytoplasme des cellules infectées.

L'ARN viral génomique dans le cytoplasme des cellules infectées peut être traduit en deux polyprotéines, pp1a et pp1ab, qui sont traitées par deux protéases virales, la protéase de type 3C (3CLpro), et la protéase de type papaïne (PLpro), pour générer 16 protéines non structurelles (NSP) matures (Wu *et al.*, 2020). Parmi elles, la nsp12, également appelée ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp), et s'assemble avec plusieurs NSP comme NSP7 et NSP8 pour former un complexe de réplication et de transcription (RTC) ancré sur des vésicules à double membrane (DMV), responsable de la réplication et de la transcription du génome viral (Q. Wang *et al.*, 2020).

Après l'assemblage du RTC, la synthèse d'un ARN viral de polarité négative (-) est utilisée comme matrice pour la synthèse de nouveaux ARN génomiques de polarité positive (+) et d'ARN subgénomiques messagers. Ainsi, au cours du processus de la transcription, 7 à 9 ARNs subgénomiques sont produits, incluant ceux des protéines structurales (Sophie, 2020, p. 2).

Par conséquent, le RTC permet de reproduire l'ARN viral et d'autre part, par le biais de la formation d'ARN subgénomiques, la production de protéines de structure des nouveaux virions (Bonny *et al.*, 2020).

Par conséquent, le RTC permet de reproduire l'ARN viral et d'autre part, par le biais de la formation d'ARN subgénomiques, la production de protéines de structure des nouveaux virions. Une fois que le génome viral est répliqué et que les ARNs subgénomiques sont synthétisés, ils sont par la suite traduits en protéines structurelles telles que les protéines S, M, et E. Ces protéines sont insérées dans la membrane du réticulum endoplasmique (RE) puis déplacées vers le compartiment intermédiaire réticulum endoplasmique-Golgi où les particules virales sont assemblées. Pendant ce temps, le programme génomique préalablement répliqué peut directement joindre la protéine N à la forme de la nucléocapside et se déplacer dans l'ERGIC. Dans ce compartiment, la nucléocapside va s'assembler avec les glycoprotéines d'enveloppe ce qui permet aux nouvelle particules virales de bourgeonner et de former de petites vésicules qui sont expulsées hors de la cellule par exocytose (Astuti and Ysrafil, 2020).

4. Les mutations génomiques et les variantes de SARS-CoV-2

4.1. Mutation

Tous les virus, mutent avec le temps. La plupart des mutations ont eu peu d'effet sur les propriétés du virus. Cependant, certaines mutations peuvent affecter les propriétés du virus et affecter, par exemple, la facilité avec laquelle le virus se propage, la gravité de la maladie qu'il provoque ou l'efficacité des vaccins, des médicaments, des outils de diagnostic ou d'autres mesures sociales et de santé publique. La réplication de SARS-CoV-2 n'est pas très fidèle et de nombreuses mutations apparaissent rapidement. Celles qui font actuellement là une des journaux portent uniquement sur la protéine S. D'autres mutations apparaissent spontanément sur l'ensemble du génome de SARS-CoV-2 mais, à ce jour, elles ont moins d'impact sur la progression et le contrôle de la pandémie. En effet, la protéine S est la pièce centrale de la capacité du virus à infecter une cellule et, par son exposition à l'extérieur de l'enveloppe virale, elle est la cible de la réaction immunitaire, naturelle ou vaccinale.

4.2. Lignées et les variantes

On distingue 6 variantes (*Le point sur les variants du Coronavirus Covid19*, no date, p. 19).

- La lignée B.1.1.7 est nommé le variant ALPHA "anglais"
- La lignée B.1.351 est nommé le variant BETA "sud-africain"

- La lignée B.1.1.248 ou lignée p1 est nommé le variant GAMMA "brésilien"
- La lignée B.1.617.2 est nommé le variant DELTA "indien" n°1
- La lignée B.1.617.1 est nommé le variant KAPPA "indien" n°2
- La lignée B.1.1.529 est nommé le variant OMICRON "sud-africain"

4.3. Le variant actuelle omicron

La maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) a fait peser une grande menace sur la santé publique mondiale. Récemment, une nouvelle variante B.1.1.529 du coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2) a été signalée en Afrique du Sud et a induit une augmentation rapide des cas de COVID-19. Le 24 novembre 2021, le B.1.1.529 nommé Omicron a été désigné comme variante sous surveillance (VUM) par l'Organisation mondiale de la santé (OMS). Deux jours plus tard, la variante Omicron a été classée comme variante préoccupante (VOC). Cette variante abrite un nombre élevé de mutations, dont 15 mutations dans le domaine de liaison au récepteur (RBD) de la pointe. La variante Omicron partage également plusieurs mutations avec les précédentes variantes VOC Alpha, Beta et Gamma, ce qui a immédiatement soulevé des inquiétudes mondiales concernant la transmissibilité virale, la pathogénicité et l'évasion immunitaire.

Omicron se compose de plusieurs sous-lignées, dont chacune est surveillée par l'OMS et ses partenaires. Parmi celles-ci, les plus courantes sont BA.1, BA.1.1 (ou clade Nextstrain 21K) et BA.2 (ou clade Nextstrain 21L). Au niveau mondial, la proportion de séquences signalées qui sont désignées BA.2 a augmenté par rapport à la sous-lignée BA.1 au cours des dernières semaines, mais la circulation mondiale de tous les variantes seraient en baisse (He *et al.*, 2021).

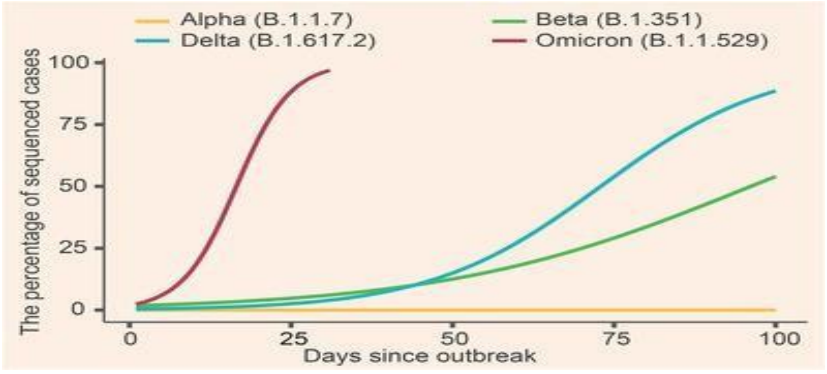


Figure 8:graphe représente la vitesse de propagation des 4 variante de SARS-CoV-2 sur période de 100 jours (He et al., 2021).

5. La réponse immunitaire contre l'infection par SARS-CoV-2

Le système immunitaire joue un rôle important dans la défense contre les coronavirus, dont le SARS-CoV2. Il met en jeu à la fois des mécanismes de l'immunité innée et adaptative (Mohammed *et al.*, 2022).

L'action du système immunitaire se déroule en plusieurs phases. La première, qui dure 5 à 6 jours, fait intervenir l'immunité innée qui se met en place rapidement. La seconde phase, qui commence vers le 7e jour, fait intervenir ce que l'on appelle l'immunité adaptative, qui est spécifique du virus et aboutit à la protection du malade. L'immunité adaptative se développe grâce à l'action conjointe de cellules du sang, les lymphocytes T, qui détruisent les cellules infectées par le virus, et des lymphocytes B qui produisent des anticorps. Ces anticorps contribuent surtout à la protection contre les réinfections à un moment ultérieur où ils auront acquis une grande affinité contre le virus.

Cette réponse immunitaire conduit à la guérison de l'infection en 10 à 14 jours et à une protection contre des infections ultérieures. Il se trouve malheureusement que dans 15-20% des cas, alors que le virus est en train de disparaître, l'immunité cellulaire contre le virus s'emballe et donne lieu à un orage cytokinique. On entend sous ce terme la production d'un grand nombre de molécules inflammatoires sécrétées en grande quantité par certaines cellules, et qui sont à l'origine d'une détresse respiratoire d'une grande gravité.

5.1. La réponse immunitaire innée

Une première phase où la réponse immunitaire concerne principalement l'immunité innée qui vont activées dès les premières heures de l'infection et pouvant durer plusieurs mois, voire années. Dans les premières soixante-douze heures, c'est l'immunité innée qui se déclenche,qui s'appuie notamment sur des cellules immunitaires telles que les macrophages, les monocytes et les cellules dendritiques et neutrophile,capables de détruire les virus de manière non spécifique par la reconnaissance de caractéristiques moléculaires virales ou cellulaires, Cette réponse à tendance à produire des cytokines pro-inflammatoires, des chimiokines et des interférons de type I (IFN) ce qui permet par la suite le recrutement d'autres cellules immunitaires ainsi la mobilisation et la coordination de la réponse requise pour contenir et éradiquer l'infectioncette phase est souvent asymptomatique ou pauci-symptomatique et dans la majorité des cas régresse spontanément

Dans les cas sévères, De nombreuses études soulignent que la dysrégulation de la réponse immunitaire innée conduisant à un syndrome de libération de cytokines, également connu sous le nom de **"tempête de cytokines"** et contribue activement à la physiopathologie de la maladie covid 19(Mohammed *et al.*, 2022).

5.1.1. Tempête de cytokines et inflammation

L'infection par le SARS-CoV-2 se caractérise par une surproduction de cytokines pro-inflammatoires est la réponse initiale de défense contre l'infection virale contre SARS-CoV-2. Cependant, l'inefficacité de la réponse immunitaire initiale entraîne une exacerbation de la

réponse inflammatoire initiale au niveau pulmonaire, qui se traduit cliniquement par un SDRA responsable d'une aggravation clinique chez certains patients, et s'accompagne de plusieurs signes d'hyperactivation du système immunitaire(Bonny *et al.*, 2020),notamment une libération excessive de cytokines pro-inflammatoires et des chimiokines principalement l'interleukine 6 (IL-6) et CXCL17 (capable de recruter les macrophages alvéolaires), CCL2 et CCL8 (associées au recrutement des polynucléaires neutrophiles) CCL7 (recrutant les monocytes) et CXCL9/CXCL16 (recrutant les lymphocytes T et NK) et le facteur de nécrose tumorale α (TNF-α), l'IL-1b, l'interféron (IFN)-y et la protéine chimio-attractante monocytaire 1 (MCP-1) (Knoll, Schultze and Schulte-Schrepping, 2021, p. 19)

En règle générale, l'IFN induit l'induction de l'apoptose pour protéger les cellules hôtes de la propagation virale et fournir une réponse immunitaire antivirale limitant la réplication virale dans les cellules hôtes infectées (Mohammed *et al.*, 2022)

5.2. Les éléments du système immunitaire innée et le COVID-19

5.2.1. TLRs et le SARS-CoV-2

Après entrée du virus dans les cellules épithéliales et immunitaires du tractus respiratoire, Les cellules immunitaires identifient les virus envahisseurs grâce à des modèles moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP) dérivés de virus, qui se lient et activent les différents récepteurs de reconnaissance de formes PRR (Pattern Recognition Receptors) comme les (TLRs 3, 7et 4), Ces récepteurs vont ensuite activer des facteurs de transcription (IRF-3, IRF-7, NF-κB). Cette activation entraîne la sécrétion de cytokines (TNF-α, IL-1, IL-6) entraînant une hyperperméabilité capillaire et l'attraction de cellules inflammatoires, et production d'interférons de type I (IFN- I) nécessaires à la défense antivirale (Mohammed *et al.*, 2022). D'ailleurs, chacune des PRR peut induire une réponse biologique différente en fonction de l'activation ultérieure de la protéine (Lotfi, Kalmarzi and Roghani, 2021).

- **TLR4 :** la reconnaissance de la protéine Spike par les TLR-4 des monocytes conduit à la transduction du signal NF-kB (Nuclear factor-kappaB) qui provoque la sécrétion de l'interleukine-6 (IL-6) responsable d'une inflammation locale (Diamond and Kanneganti, 2022, p. 2).
- **TLR3 :** l'activation du récepteur endosomale TLR-3 à travers la reconnaissance du génome viral induit l'activation de la protéine adaptatrice MyD88 (Myéloïde différentiation factor 88) qui conduit directement au recrutement de la protéine adaptatrice TRIF (Tircontaining adapter inducing IFNβ) activant par la suite les facteurs de transcription Interferon regulatory factor-3 (IRF-3) qui migrent vers le noyau nucléaire et entraine la transcription des gènes de l'IFN I (Diamond and Kanneganti, 2022).

- **TLR7 :** À cet égard, l'imiquimod, agoniste du TLR7, stimule la réponse immunitaire spécifique et non spécifique et la production de cytokines (Mohammed *et al.*, 2022)

5.2.2. Neutrophiles et COVID

La physiopathologie du COVID-19 sévère est marquée par une altération de l'abondance, du phénotype et de la fonctionnalité des neutrophiles. Lors de l'infection par le SRAS-CoV-2, un taux de neutrophiles dans le sang et dans le lavage broncho-alvéolaire majorés par rapport aux malades modérés (Reusch *et al.*, 2021, p. 19). L'apparition de pro- et pré-Neu spécifiquement dans la circulation des patients atteints de COVID-19 sévère à des stades ultérieurs de la maladie est un indicateur clair de myélopoïèse d'urgence (13, 59). Les pro-Neu sont caractérisés par des gènes impliqués dans la formation de NET, notamment MPO, ELANE, PRTN3, tandis que les pré-Neu présentent l'expression de CD177, CD24, OLFM4, LCN2 et BPI, des gènes qui ont été associés à de mauvais résultats dans la septicémie (Reusch *et al.*, 2021, p. 19).

Ces cellules pourraient être impliquées dans la cascade inflammatoire délétère via leurs Neutrophile Extracellular Traps (NETs), des filets constitués de molécules d'acide désoxyribonucléique (ADN), d'histones et de molécules inflammatoires (Barnes *et al.*, 2020).

La formation de NET dans les poumons peut en outre être déclenchée par un contact direct des neutrophiles avec le SRAS-CoV-2, car des stimulations in vitro avec la formation de NET induite par le virus sont probablement via la signalisation TLR7 (Reusch *et al.*, 2021, p. 19).

En effet, ces NETs ont été liés à des cytokines augmentées dans le COVID comme l'IL-1β ou IL-6 ainsi qu'avec des évènements thrombotiques dont la fréquence est majorée dans la maladie (Barnes *et al.*, 2020, p. 19)

En outre, les taux plasmatiques de RETN, HGF et LCN2, généralement produits par les neutrophiles, ont récemment été proposés comme prédictifs des maladies graves et de la mortalité (Reusch *et al.*, 2021, p. 19).

5.2.3. Monocytes et macrophages

Les macrophages et les monocytes ont été impliqués dans les formes sévères de SARS et l'infiltration du poumon par des macrophages dérivés de monocytes est liée au développement d'une atteinte pulmonaire sévère (Merad and Martin, 2020)

Les monocytes et les macrophages sont liés à l'hétérogénéité de l'évolution de la maladie COVID-19. Par exemple, les monocytes HLA-DR hi sont généralement observés dans les cas bénins, tandis que HLA-DR Lo S100 +les cellules dominent dans le COVID-19 sévère, en autre côté une perte des macrophages alvéolaires (cellules résidentes alvéolaires impliquéesdans la défense immunitaire et l'homéostasie pulmonaire) et une majoration de macrophages dérivés de monocytes présentant un profil pro-inflammatoire. Ces derniers produisent

plusieurs chimiokines, dont CCL2 et CCL7 qui est impliquée dans le recrutement de monocytes circulant vers les organes (Knoll, Schultze and Schulte-Schrepping, 2021, p. 19)
Une expansion significative des monocytes CD14 + CD16 + présentant une expression élevée d'IL-6 dans le sang discriminait les patients atteints de COVID-19 admis aux soins intensifs de ceux qui n'avaient pas besoin de soins intensifs (Zhou *et al.*, 2020).
Les monocytes humains infectés ex vivo ont modifié leur métabolisme et sont devenus hautement glycolytiques, entraînant des taux de glucose élevés favorisant la réplication du SRAS-CoV-2 et la production de cytokines (Codo *et al.*, 2020).
IL1β, IL6, TNF ainsi que CCL2, CCL3, CCL4 et CCL7 ont été exprimés à des niveaux plus élevés dans les macrophages pulmonaires de patients atteints de COVID-19 sévère (Knoll, Schultze and Schulte-Schrepping, 2021, p. 19).

5.3. Réponse immunitaire adaptative

La réponse immunitaire adaptative met plusieurs jours avant de se mettre en place est la deuxième ligne pour la clairance immunologique du SRAS-CoV-2 par la destruction des cellules hôtes infectées grâce à les lymphocytes T cytotoxiques activés et la production d'anticorps spécifiques au virus par les lymphocytes B, Ce système est aussi capable de garder une “mémoire” des rencontres précédentes (Mohammed *et al.*, 2022)
Le système immunitaire adaptatif est constitué principalement de deux types de réponse immunitaire, L’immunité humorale concerne en général les lymphocytes B et l’immunité cellulaire plutôt les lymphocytes T (TCD8 ou TCD4).
Les grandes fonctions de l’immunité adaptative sont de reconnaître des structures étrangères à l’organisme grâce à des récepteurs spécifiques(TCR) et (BCR), d’éliminer ces substances étrangères par des mécanismes effecteurs et de mémoriser ces structures étrangères par la mise en jeu de cellules mémoires (Bertholom, 2021, p. 2).

5.3.1. Lymphocytes B et immunité humorale contre le SRAS-CoV-2

L’infection par le Sars-CoV-2 entraîne une réponse immunitaire humorale a été activé par stimulation des cellules auxiliaires T CD4+ ou par interaction directe avec le SRAS-CoV-2, et synthèse d’anticorps (IgM, IgA, IgG) par les lymphocytes B, dirigés contre deux des principales protéines du virus :

- **Anticorps anti-N :** dirigés contre la protéine de Nucléocapside, interne au virus.
- **Anticorps anti-S :** dirigés contre la protéine Spike de surface, permettant l’interaction et la fusion du virus avec la cellule cible, et plus précisément, des anticorps anti-S1/RBD (receptor binding domain) (Sette and Crotty, 2021, p. 19).

La protéine Spike est la cible des anticorps neutralisants du SRAS-CoV-2, et le domaine de liaison au récepteur (RBD) de Spike est la cible de > 90 % des anticorps neutralisants dans

les cas de COVID-19, avec certains anticorps neutralisants ciblant plutôt le domaine N-terminal (NTD) (Sette and Crotty, 2021, p. 19).
Les anticorps (Ac) anti-S/S1/RBD semblent être développés plus précocement que les Ac anti-N, seraient détectés plus longtemps et leur activité serait neutralisante (Dan *et al.*, 2021).
La production d'anticorps d'isotype IgM débuterait assez précocement (à partir du cinquième jour suivant l'apparition des symptômes) et serait détectable au cours de la deuxième semaine chez la totalité des patients. La production des IgG survient de façon un peu décalée par rapport à celle des IgM mais peut être aussi quasi concomitante et donc les anticorps anti-Sars-CoV-2 (IgM et/ou IgG) sont détectables chez les patients symptomatiques à partir de la deuxième semaine suivant l'apparition des symptômes (Bertholom, 2021, p. 2).

Les anticorps (Ac) anti-S/S1/RBD semblent être développés plus précocement que les Ac anti-N, seraient détectés plus longtemps et leur activité serait neutralisante (Dan *et al.*, 2021).
La production d'anticorps d'isotype IgM débuterait assez précocement (à partir du cinquième jour suivant l'apparition des symptômes) et serait détectable au cours de la deuxième semaine chez la totalité des patients. La production des IgG survient de façon un peu décalée par rapport à celle des IgM mais peut être aussi quasi concomitante et donc les anticorps anti-Sars-CoV-2 (IgM et/ou IgG) sont détectables chez les patients symptomatiques à partir de la deuxième semaine suivant l'apparition des symptômes (Bertholom, 2021, p. 2).

L'immunoglobuline sécrétoire A (IgA) protège les voies respiratoires muqueuses contre le SRAS-CoV-2, elle est généralement considérée comme l'immunoglobuline la plus critique pour neutraliser le SRAS-CoV-2. Chez les patients infectés par le COVID-19, les IgA sont fortement libérées que les autres immunoglobulines, restent plus longtemps que les IgM et stimulent la production de cytokines pro-inflammatoires telles que les protéines chimiotactiques monocytes (MCP) et l'interleukine-6 (IL-6) (Mohammed *et al.*, 2022).

5.3.2. Réponse immunitaire adaptative

La réponse immunitaire adaptative met plusieurs jours avant de se mettre en place. La réponse immunitaire adaptative mobilise des défenses adaptées spécifiquement à chaque agent pathogène comme ici au virus à l'origine de la Covid-19 (SARS-CoV-2). Ce système est aussi capable de garder une "mémoire" des rencontres précédentes.
Le système immunitaire adaptatif est constitué principalement de deux types de réponse immunitaire, L'immunité humorale concerne en général les lymphocytes B et l'immunité cellulaire plutôt les lymphocytes T (TCD8 ou TCD4).
Les grandes fonctions de l'immunité adaptative sont de reconnaître des structures étrangères à l'organisme grâce à des récepteurs spécifiques, d'éliminer ces substances étrangères par

Des mécanismes effecteurs et de mémoriser ces structures étrangères par la mise en jeu de cellules mémoires (Bertholom, 2021, p. 2).

Dans une infection naturelle, la réponse immunitaire adaptative prend du temps se développer, et de nombreuses cellules sont déjà infectées au moment où une réponse anticorps se développe. Souvent, les anticorps seuls ne peuvent pas éliminer une infection en cours, il faut également des lymphocytes T. C'est peut-être la raison pour laquelle les titres d'anticorps neutralisants du SRAS-CoV-2 n'ont pas été corrélés avec une diminution de la gravité de la maladie dans le COVID-19 primaire (Sette and Crotty, 2021, p. 19).

5.3.3. Lymphocytes B mémoire

Des cellules B mémoire se forment, un élément essentiel de l'immunité durable après la clairance virale (Mohammed *et al.*, 2022). Les cellules B mémoire spécifiques de Spike, RBD et de la nucléocapside ont été évaluées 6 mois après le COVID- 19 dans des sujets à 6 ans et plus mois après l'infection (Sette and Crotty, 2021, p. 19).

Presque toutes les cellules B mémoire spécifiques à Spike étaient des IgG, avec seulement 5% de représentation d'IgA (Sette and Crotty, 2021, p. 19).

Des cellules B mémoire IgG RBD ont également été systématiquement trouvées dans une cohorte indépendante. Notamment, les fréquences des cellules B mémoire RBD (et Spike) ont augmenté avec le temps, En plus, les cellules avaient subi une maturation d'affinité et exprimé des anticorps neutralisants de puissance plus élevée, compatibles avec des réponses prolongées du centre germinal après une infection par SARS CoV-2(Sette and Crotty, 2021, p. 19).

5.3.4. Lymphocytes T et immunité cellulaire contre le SARS-CoV-2

Les lymphocytes T CD4+ possèdent une gamme de fonctionnalités auxiliaires et effectrices. Les lymphocytes T CD8+ tuent les cellules infectées (Sette and Crotty, 2021, p. 19).

Il est plausible que le système immunitaire inné tente de combler le vide laissé par l'absence de réponse des lymphocytes T, tentant de contrôler le virus avec une réponse immunitaire innée en constante expansion (Sette and Crotty, 2021, p. 19).

- **Les lymphocytes T CD4+**

Les réponses des lymphocytes T CD4+ au SRAS-CoV-2 sont plus importantes que les réponses des lymphocytes T CD8+, et ont été associés au contrôle de l'infection primaire par le SRAS-CoV-2 (Sette and Crotty, 2021, p. 19).

La prévalence et l'ampleur des réponses des lymphocytes T CD4+ du SRAS-CoV-2 sont en corrélation avec le niveau d'expression de chaque protéine du SRAS-CoV-2. Spike, M et la nucléocapside sont les cibles les plus importantes des lymphocytes T CD4+ spécifiques du

SRAS-CoV-2, avec des réponses substantielles également contre ORF3a et nsp3 (Sette and Crotty, 2021, p. 19).

Les lymphocytes T CD4+ ont la capacité de se différencier en une gamme d'auxiliaires et les types de cellules effectrices, capables d'instruire les cellules B, d'aider les cellules T CD8 +, et recruter des cellules innées, d'avoir des activités antivirales directes et de faciliter la réparation des tissus.

Les cellules auxiliaires T sécrètent divers médiateurs tels que des cytokines pro-inflammatoires pour amplifier la réponse immunitaire et aider d'autres cellules (Mohammed *et al.*, 2022).

Les lymphocytes T CD4+ spécifiques du virus se différencient généralement en cellules Th1 et Th2 ainsi que des cellules auxiliaires folliculaires T (Tfh).et T auxiliaires 17(Th17) (Sette and Crotty, 2021, p. 19).

- **La cellule T auxiliaire (Th1**) a des activités antivirales, peut induire la différenciationde lymphocytes T cytotoxiques primaires) (LTCp) en LTC effecteur en produisant de l'IL-2, de l'IL-12, du TGF-β et de l'IFN-γ, ainsi que **des cellules Th2**, aider les cellulesB à produire des anticorps en sécrétant IL-4, 5, 6, 10 et TGF-β (Mohammed *et al.*, 2022).
- **Les cellules auxiliaires folliculaires T (Tfh)** sont les fournisseurs spécialisés de l'aide des cellules B et sont essentielles au développement de la plupart des réponses d'anticorps neutralisants, ainsi que des cellules B mémoire et de l'immunité humorale à long terme, Des cellules Tfh circulantes (cTfh) spécifiques du SRAS-CoV-2 sont générées lors d'une infection aiguë par le SRAS-CoV-2 (Sette and Crotty, 2021, p. 19).
- **Les cellules T régulatrices (Treg)** qui jouent un rôle essentiel contre les infections respiratoires, sont également affectées chez les patients atteints de COVID-19, D'autre part, **les cellules T auxiliaires 17(Th17)** serait un élément important dans l'inflammation locale, agissant grâce à plusieurs cytokines pro-inflammatoires telles que les interleukines 17, 21, 22 qu'il sécrète. Le lymphocyte Th17 concourt également au chimiotactisme et au recrutement des polynucléaires neutrophiles (Mohammed *et al.*, 2022).
- **Les lymphocytes T CD8+**

Les lymphocytes T CD8+ sont essentiels à l'élimination de nombreuses infections virales, en raison de leur capacité à tuer les cellules infectées. Dans les infections par le SRAS-CoV-2(Sette and Crotty, 2021, p. 19).

Les lymphocytes T CD8+ SARS-CoV-2 sont spécifiques d'une gamme d'antigènes SARS CoV-2, avec puits Spike, et nucléocapside, ainsi que la protéine M et ORF3a représentée (Sette and Crotty, 2021, p. 19).

Au cours de l'infection virale aigu par SARS CoV-2, les lymphocytes T CD8+ naïfs reconnaissent les antigènes viraux présentés sur le complexe majeur d'histocompatibilité I (CMH I) par leurs récepteurs des lymphocytes T (TCR), puis sont activés et subissent une expansion clonale et une différenciation en lymphocytes T effecteurs CD8+, Les lymphocytes T effecteurs CD8+ présentent des niveaux élevés de molécules associées à de puissantes fonctions effectrices cytotoxiques, telles que l'IFN-γ, le granzyme B, la perforine et le CD107a et lysent les cellules infectées(Mohammed *et al.*, 2022). La sur activation des lymphocytes T CD8 + induit des réponses de cytotoxicité incontrôlées, entraînant des lésions tissulaires partielles (Mohammed *et al.*, 2022).

5.4. La mémoire immunologique des lymphocytes T

Il existe quatre composantes majeures de la mémoire immunologique pour virus SARS CoV-2 : anticorps, lymphocytes B mémoire, lymphocytes T CD4+ mémoire et Cellules T CD8+ à mémoire, La mémoire immunitaire est la source de protection immunité contre une infection ultérieure (Sette and Crotty, 2021, p. 19).La majorité des cellules T à réaction croisée SARS-CoV-2 sont des lymphocytes T CD4+, La mémoire des lymphocytes T CD4+ à épitopes conservés se compose principalement de cellules Th1 et Tfh, D'autre part, La majorité des lymphocytes T CD8+ mémoire avaient un phénotype de cellule mémoire effectrice différenciée en phase terminale(Sette and Crotty, 2021, p. 19).une population de lymphocytes T mémoire est stockée pour lutter contre la réinfection au COVID-19 à l'avenir, Les lymphocytes T CD4 + mémoire, lors de la restimulation, déclenchent les lymphocytes B et d'autres cellules immunitaires par la production de cytokines(Mohammed *et al.*, 2022).

5.5. COVID-19 et anomalies des lymphocytes T (lymphopénie)

Les lymphocytes expriment le récepteur ACE2, ce qui les rend une cible directe du virus, donc le SARS-CoV-2 semble infecter directement les lymphocytes, entraînant leur destruction ou leur dysfonctionnement avec un taux sanguin des lymphocytes plus faible (lymphopénie), en particulier cette dérégulation de la réponse immunitaire des lymphocytes T, semble être fortement impliquée dans le processus pathologique lié à COVID-19(Admou, 2021).

Les lymphocytes T CD4+ et les lymphocytes T CD8+ et NK sont significativement réduits chez les patients atteints de COVID-19 sévère, dont moins de 5 % était associé à un taux de mortalité élevé, D'autre part, le pourcentage de lymphocytes peut être utilisé comme biomarqueur pour classer la gravité de l'infection (Mohammed *et al.*, 2022).

Plusieurs processus essentiels sont potentiellement impliqués dans les lymphopénies associées au COVID-19, tels que la pyroptose induite par les cytokines et l'apoptose des lymphocytes, les lésions des organes lymphatiques induites par le virus, la séquestration

lymphocytes dans les poumons ou d'autres organes, l'hématopoïèse réduite de la moelle osseuse (Mohammed *et al.*, 2022).
La surexpression du récepteur Natural Killer du groupe 2 membre A (NKG2A) peut être l'une des principales causes d'épuisement des lymphocytes T CD8 +(Mohammed *et al.*, 2022).

6. Le système de complément et le sars-cov-2

6.1. Le système de complément

Le système du complément fait partie du système immunitaire inné et joue un rôle important dans la défense de l'hôte, l'inflammation, la régénération des tissus et d'autres processus physiologiques (Java *et al.*, 2020) L'activation du complément entraîne l'opsonisation des agents pathogènes et leur élimination par les phagocytes. Elle provoque également une attraction chimiotactique des phagocytes et des macrophages. En outre, le système du complément forme le complexe d'attaque terminal (MAC), un canal membranaire provoquant la lyse osmotique de l'agent pathogène concerné. Bien que le complément ne soit pas adaptable, il complète le système immunitaire adaptatif et il est également impliqué dans la régulation de la réponse des cellules B et T (Santiesteban-Lores *et al.*, 2021).

6.2. Les voies d'activation du Complément

L'activation du complément se déroule selon trois voies d'activation du complément différentes selon la nature de l'agent pathogène : La voie classique, la voie des lectines et la voie alternative. Ces trois voies convergent vers la voie terminale commune qui conduit à la formation du MAC (Santiesteban-Lores *et al.*, 2021).

6.2.1. La voie classique

L'activation par la voie classique est initiée par la fixation de la première protéine du Complément, C1q, à un de ses ligands. Parmi ceux-ci, les plus importants sont les domaines CH2 du fragment Fc des immunoglobulines IgG1, IgG2, et IgG3 et le domaine CH4 des IgM. Cette activation fait intervenir un complexe macromoléculaire composé de trois protéines : la protéine de reconnaissance, C1q, qui est associée à deux serines estérases C1r et C1s. Cette fixation entraîne l'auto-activation de C1r, qui clive et active ainsi C1s. Le composant C1s activé clive alors le composant C4 présent dans le plasma en un petit fragment C4a, libéré en phase fluide, et un fragment majeur C4b, qui se fixe alors de façon covalente à la surface-cible de l'activation.

Le composant C2, circulant dans le plasma, peut alors s'associer au C4b et être clivé à son tour par C1s en un fragment C2a, qui reste associé à C4b, et un fragment C2b libéré en phase fluide.

Ainsi se trouve formé sur la surface activatrice le complexe C4b2a, appelé C3 convertase classique car il a la capacité de cliver C3. L'activité enzymatique est portée par la sous-unité C2a (Schartz and Tenner, 2020).

6.2.2. La voie des lectines

La voie des lectines est activée par les structures carbohydrates des micro-organismes. Il existe une similitude avec la voie classique. La protéine de reconnaissance est ici la protéine MBL (Mannan Binding Lectin) et est associée à des sérines estérases appelées MASP 1, 2 et 3 (Mannan-Associated Serine Protease) qui présentent une forte homologie avec C1s et C1r. Une fois activées, les MASP acquièrent la capacité de cliver les protéines C4 et C2 participent à la formation d'une C3 convertase, C4b2a, identique à celle formée à l'issue d'une activation par la voie classique (Warwick *et al.*, 2021).

6.2.3. La voie alterne

La voie alterne est activée par des substances d'origine bactérienne telles que le lipopolysaccharide (LPS) des bactéries Gram négatives, par des bactéries Gram positives, des virus ou des cellules infectées ou transformées. Les interactions des protéines de la voie alterne aboutissent à la formation de la C3 convertase alterne.

L'assemblage de la C3 convertase alterne commence avec l'association d'une molécule de C3b avec le Facteur B. Cette association permet au facteur B d'être clivé par une sérine protéase circulant sous forme active dans le plasma, le Facteur D, produisant les fragments Ba et Bb. Le fragment Ba s'exclut du complexe tandis que le fragment Bb reste associé à C3b et acquiert une activité enzymatique. Le complexe C3bBb est la C3 convertase de la voie alterne capable de catalyser le clivage de C3 en C3b de façon absolument identique au clivage réalisé par le complexe C4b2a. La C3 convertase alterne est un complexe enzymatique très labile qui peut être stabilisé en s'associant avec la Properdine.

Le premier dépôt covalent de C3b se fait de façon aléatoire mais cette voie d'activation est capable d'une auto-amplification qui est très importante pour la reconnaissance et l'élimination des pathogènes en l'absence d'anticorps spécifiques (Defendi *et al.*, 2020).

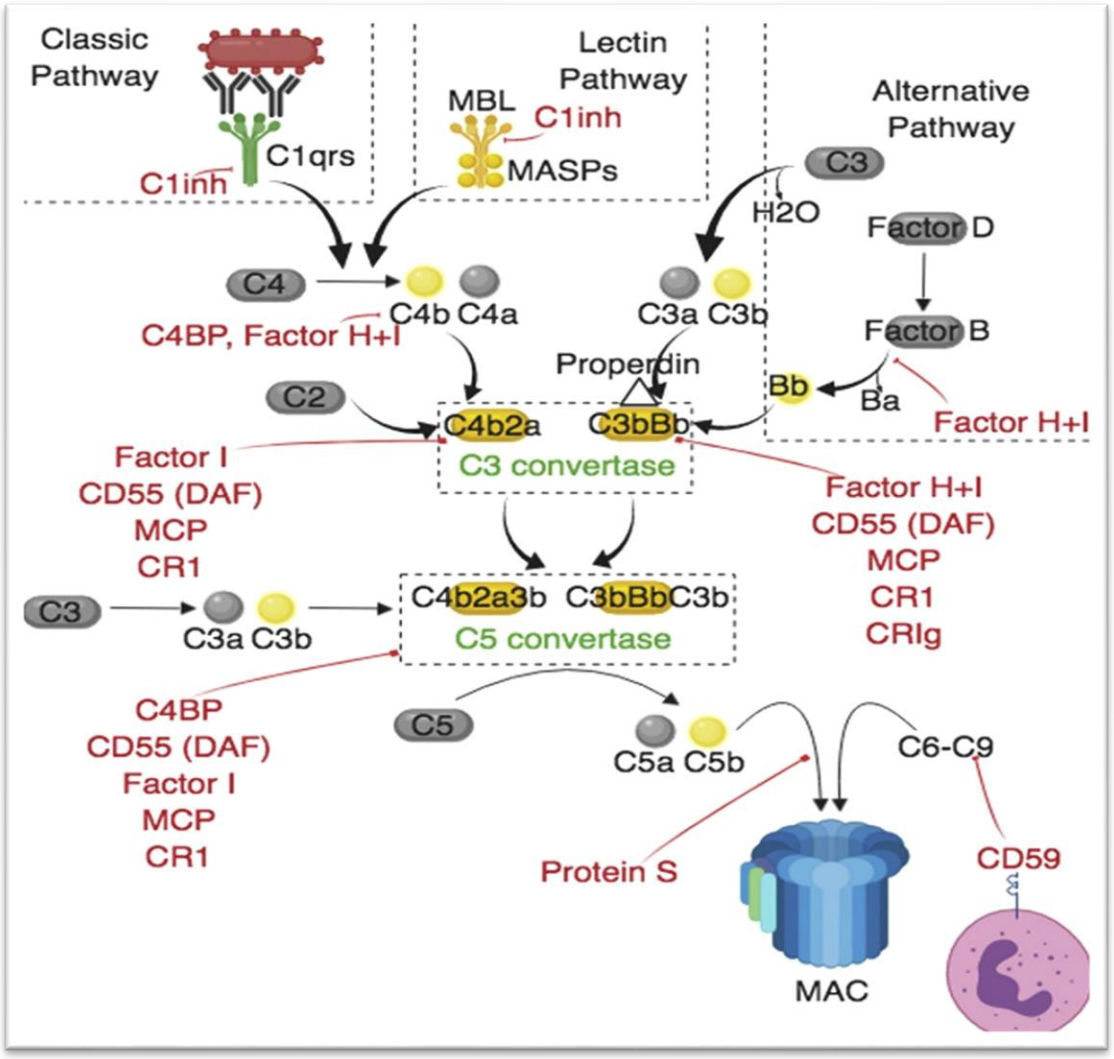


Figure 9: Schéma représente les voies du système du complément et des protéines régulatrices (Ling and Murali, 2019).

6.3. La régulation de système de complément

Comme pour toute cascade d'activation, un réseau étroit de protéines circulantes ou membranaires est en place afin de réguler au plus près les différentes voies d'activation. La voie classique est régulée par deux protéines circulantes spécifiques, le C1-Inhibiteur qui interagit avec le complexe C1 et empêche son auto-activation, et la C4 binding protein (C4bp), qui, se liant à C4b favorise sa dégradation en C4d par le Facteur (Warwick *et al.*, 2021).

La régulation, au niveau de l'initiation et de la dissociation de la C3 convertase alterne, est assurée par le Facteur H qui joue un rôle central pour discriminer les surfaces du soi et du non-soi. Il peut reconnaître les surfaces non-activatrices riches en polyanions comme l'acide

Sialique, l'héparane sulfate ou d'autres glycosaminoglycans. Il contrôle l'initiation de la C3 convertase alterne en entrant en compétition avec le Facteur B pour la fixation de C3b. Le facteur H accélère également la dissociation de la C3 convertase alterne en déplaçant le fragment Bb de la C3 convertase active (Warwick *et al.*, 2021).

Le Facteur I et ses cofacteurs pour la dégradation de C3b (facteur H, CR1 et MCP) sont également considérés comme des régulateurs de la voie alterne. Il est à noter que CR1 et MCP peuvent également servir de cofacteurs au facteur I pour la dégradation de C4b (Warwick *et al.*, 2021).

La protéine membranaire DAF (Decay Accelerating Factor ou CD55) est un régulateur négatif des C3 et C5 convertases, classique ou alterne, qui accélère leur dissociation.

Enfin, le complexe d'attaque membranaire est sous le contrôle de deux protéines, une plasmatique, la protéine S, et une membranaire, CD59, qui empêchent la formation sur les membranes, respectivement, des complexes C5b-7 et C5b-8, et la polymérisation de C9 (Warwick *et al.*, 2021).

6.4. Complément et inflammation

Le Complément, une fois activé, joue un rôle important dans l'induction de lésions tissulaires. En effet, la formation des C3 et C5 convertases induit la libération des anaphylatoxines C3a et C5a qui possèdent d'importantes capacités chimiotactiques sur les cellules inflammatoires dont les polynucléaires neutrophiles, les monocytes et macrophages ainsi que les lymphocytes T et B activés. Via leurs récepteurs, C3aR et les C5aR (CD88 et C5L2), ces petites protéines peuvent activer les cellules endothéliales et les plaquettes mais aussi induire la sécrétion de cytokines et de chimiokines à activité pro inflammatoire. De plus, C3b, par l'intermédiaire des récepteurs CR1, CR3 et CR4 peut activer les leucocytes. Enfin, C5b9, y compris des complexes sublytiques C5b7 et C5b8 formés à la surface des cellules cibles, induisent l'hydrolyse des phospholipides membranaires et l'activation des protéines G. Ces complexes sont ainsi capables de transmettre un signal et de stimuler différentes fonctions cellulaires comme la synthèse de cytokines ou l'activation de proto-oncogènes intervenant dans le cycle cellulaire.

6.5. Le système de complément contre la SARS-CoV-2

Le système du complément joue un rôle ambigu lors de l'infection par le SRAS-CoV-2. S'il peut contribuer efficacement au contrôle de cette infection chez de nombreux individus asymptomatiques ou même chez des patients présentant des symptômes légers (Santiesteban-Lores *et al.*, 2021). De nombreux organes et types de cellules, y comprisles cellules épithéliales pulmonaires alvéolaires et bronchiques ainsi que les leucocytes

infiltrants, produisent une gamme de composants du complément lors de l'infection par le SRAS-CoV-2(Polycarpou *et al.*, 2020, p. 19).

Le complément est donc une épée à double tranchant de notre système immunitaire il peut être protecteur en favorisant la clairance virale dans les cas asymptomatiques ou bénins , mais une activation non restreinte du complément induite par le virus dans les poumons et d'autres organes entraîne une inflammation aiguë et chronique, le dysfonctionnement des cellules endothéliales, la formation de thrombus, des lésions tissulaires et l'activation de la coagulation intravasculaire, en raison de son puissant effet pro-inflammatoire , et contribue finalement à la défaillance de plusieurs organes(Noris, Benigni and Remuzzi, 2020) .

Pendant l'infection par le SRAS-CoV-2, le système de complément il peut intensifier les dommages locaux et systémiques chez certains patients atteints de COVID-19 sévère (Santiesteban-Lores *et al.*, 2021). De plus, l'activation du système du complément amplifie également la tempête de cytokines et la pathogénicité de l'infection par le coronavirus (Santiesteban-Lores *et al.*, 2021).

Lors de l'activation systémique du système du complément des patients atteints de COVID-19, une augmentation des niveaux de C4d, C3bBbP, C3bc, C5a et sC5b-9 a été observée. La concentration de sC5b-9 a été spécifiquement associée à une insuffisance respiratoire et à une inflammation systémique, Collectivement, ces résultats indiquent que le complément est fortement activé dans les poumons, dans la circulation et dans les reins des patients COVID-19(Noris, Benigni and Remuzzi, 2020).

Dans une étude rétrospective, ont observé qu'en réponse au SARS-CoV-2 les patients infectés présentaient une forte induction de la transcription des gènes du Complément (C1QA, C1QB, C1QC, SERPING1, C4B, C4A, C2, CFB, CFH, C3), bien que d'autres gènes du Complément se sont révélés être régulés à la baisse (C5AR1, C5AR2, CD59) (Ramlall *et al.*, 2020).

6.6. Les effets combinés de l'activation du complément dans le COVID-19

Dans le cas du SRAS-CoV-2, une réponse exagérée de l'hôte chez les patients atteints de COVID-19 est centrée sur l'activation aberrante des neutrophiles, en particulier dans les poumons(Java *et al.*, 2020).D'autre côté, Le complément est bien connu pour favoriser l'activation des cellules immunitaires et les états pro-inflammatoires, Donc l'activation du complément et des neutrophiles fonctionne de concert pour provoquer des manifestations graves de COVID-19 en créant un milieu coagulopathique et en y générant des microthrombi, un processus qui conduit à des lésions pulmonaires, rénales et cardiaques aiguës(Java *et al.*, 2020).

Est connu que les macrophages alvéolaires et alvéolaires pulmonaires de type II peuvent sécréter plusieurs protéines du Système du Complément. C5a peut attirer les neutrophiles, les

éosinophiles, les lymphocytes et les monocytes vers le local de l'infection. De plus, C5a peut induire la formation de NET et inciter les monocytes et les neutrophiles à libérer des espèces réactives de l'oxygène (ROS) Dans les poumons, une production excessive de NET et de ROS peut endommager l'épithélium pulmonaire (Santiesteban-Lores *et al.*, 2021).
Les neutrophiles activés et les NET contiennent du C3, du facteur B et de la properdine, Ces composants sont nécessaires pour générer et stabiliser la convertase AP C3, amplifiant ainsi la cascade. La pertinence biologique de l'activation du complément sur les TNE est également supposée faciliter la formation des anaphylatoxines, C3a et C5a, qui induisent davantage le recrutement et l'activation des neutrophiles, des monocytes et des éosinophiles ainsi que la production de cytokines pro-inflammatoires(Java *et al.*, 2020), en particulier par les macrophages et les neutrophiles, y compris l'expression de TNF-α, IL-1β et IL-6, Comme indiqué précédemment, une élévation du C5a plasmatique a été observée chez les patients atteints de COVID-19 modéré et sévère, ainsi qu'une élévation de l'IL-6 (40)(Java *et al.*, 2020). Les cellules endothéliales sont induites par le MAC à sécréter un type de facteur qui semble s'accompagner d'une augmentation de l'activité de la prothrombinase. Cela peut contribuer au dépôt de fibrine et aux lésions endothéliales. Il a été démontré que MASP-1 et MASP-2 peuvent cliver la prothrombine et activent le fibrinogène et le facteur XIII (Santiesteban-Lores *et al.*, 2021).

Dans le SDRA atypique qui complique le COVID-19, des dépôts importants de complément C4d, MASP2 et C5b-9 ont été signalés dans les poumons et dans la microvascularisation dermique, Il a été démontré qui les pièges extracellulaires de neutrophiles (NET) conduisant à des agrégats plaquettes-leucocytes et la libération de facteurs tissulaires pour déclencher la voie de coagulation extrinsèque (Song and FitzGerald, 2020).

De plus, il y a eu des rapports récents dans de petits groupes d'enfants atteints de COVID-19 avec une maladie multiorganique agressive et des preuves de laboratoire de maladie hyper-inflammatoire et de thrombose, Les lésions vasculaires et l'hypercoagulabilité chez ces enfants suggèrent fortement une implication du complément par co-déclenchement des cascades du complément et de la coagulation (Polycarpou *et al.*, 2020, p. 19).

De la même manière, le rôle du système du complément dans l'infection par le SRAS-CoV-2 peut être contre-intuitif puisque le virus pourrait avoir des mécanismes pour résister et/ou exploiter le complément pour faciliter l'entrée cellulaire (Polycarpou *et al.*, 2020, p. 19).

Les virus cherchent à désactiver et à exploiter l'activation du complément en utilisant des stratégies variées, Par exemple, atténuent l'activation du complément en exprimant une protéine présentant une homologie fonctionnelle et structurelle pour compléter les protéines régulatrices. De même, détournent les régulateurs du complément pour éviter leur engagement et ainsi inhiber l'activité antivirale(Java *et al.*, 2020).

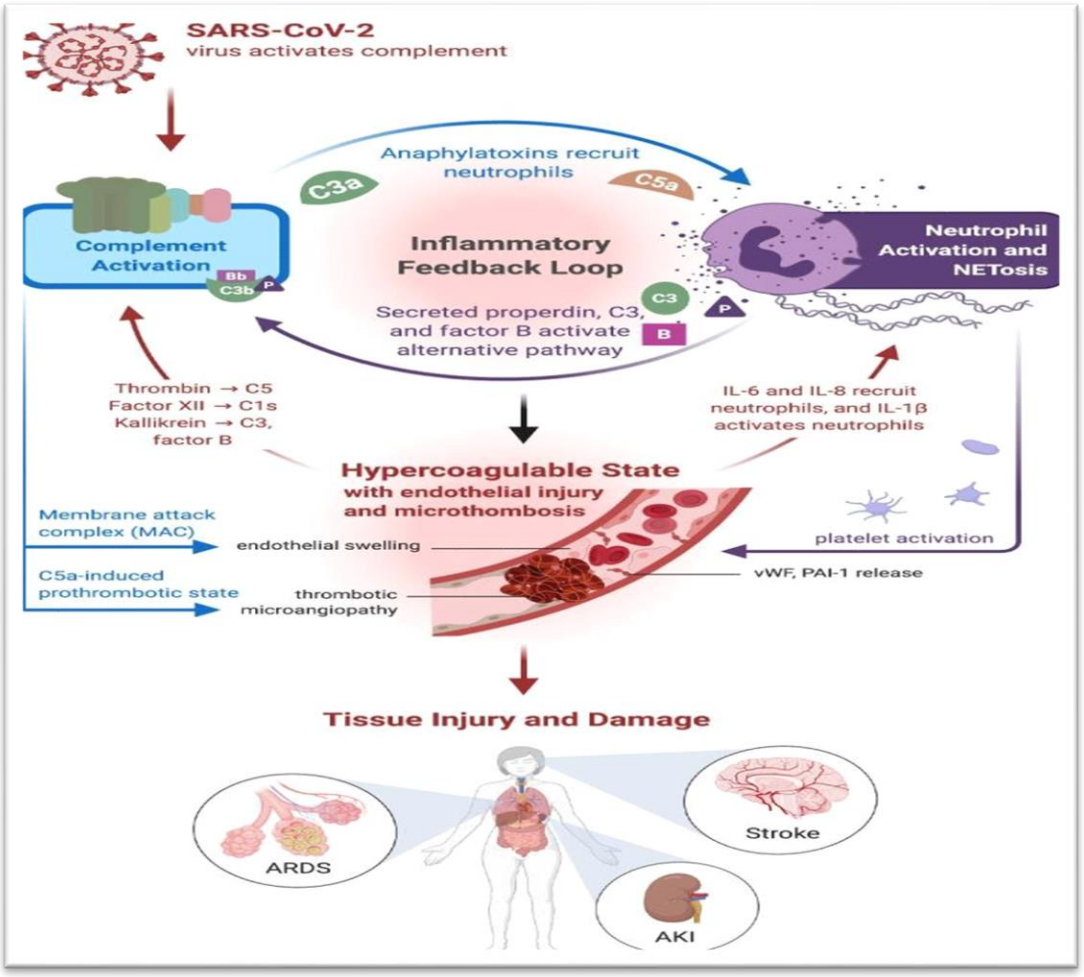


Figure 10: SARS-CoV-2 et activation du complément conduisant à des réactions hyperinflammatoires immunitaires et entraînant une pathologie humaine.

6.7. Activation du complément médiée par le SARS-CoV-2

La cascade du complément est directement activée par le SARS-CoV-2 :

- La voie des lectines

La voie de la lectine pourrait s'activer en réponse à des composants viraux tels que la protéine N (nucleocapsid), comme l'a démontré une étude récente sur le SRAS-CoV dans laquelle la protéine N a directement interagi avec et activé les protéases associées à la MBL 2 MASP2 (mannose-binding protein-associated serine protease 2) (Song and FitzGerald, 2020).

D'autre part, les dimères de la protéine N de SARS-CoV-2 se lient à MASP-2 le principal initiateur enzymatique de la lectine sentier. Cette association potentialise l'interaction MBL,

l'auto-activation de MASP-2 conduit à la génération de convertase C3 et par la suite l'activation de la voie de la lectine, conduisant à une activation incontrôlée de la cascade du complément. Ce mécanisme pourrait être à l'origine de l'inflammation et de la pathogenèse observées chez les patients COVID-19(Santiesteban-Lores *et al.*, 2021).

De plus, l'altération du motif de liaison MASP-2, soit via la suppression de Masp2, soit en bloquant l'interaction de la protéine MASP-2-N, a atténué les lésions pulmonaires (Java *et al.*, 2020). Il a été démontré que la protéine de la nucléocapside (N) du SRAS- CoV - 2 déclenche la voie de la lectine, ce qui pourrait induire des lésions tissulaires et une thrombose (Gaikwad *et al.*, 2022).

La protéine S induirait l'activation de la voie alterne (Chouaki Benmansour, Carvelli and Vivier, 2021, p. 19; Jarlhelt *et al.*, 2021).

En ce qui concerne l'activation de la voie alternative par le SARS-CoV-2, il a été démontré que les sous-unités 1 et 2 de la protéine S du SARS-CoV-2 activent directement cette voie (Santiesteban-Lores *et al.*, 2021).

De plus, C4d et C5b-9 colocalisés avec la protéine S du SRAS-CoV-2 dans le système vasculaire pulmonaire et cutané (Java *et al.*, 2020).

- La voie classique

le système du complément qui fonctionne en tandem avec les anticorps et les phagocytes pour reconnaître un large éventail de virus et de cellules infectées par des virus, entraînant la neutralisation des virus et la destruction des cellules infectées, Les anticorps peuvent activer le complément via la voie classique via la liaison C1q (Partie du complexe protéique C1) aux fragment Fc des IgG adjacenteset, cette anticorps à titre élevé et à haute affinité contre le domaine de liaison au récepteur (RBD) de la protéine S(Gaikwad *et al.*, 2022).

Les anticorps naturels (IgM) qui reconnaissent les antigènes viraux ou les néo-antigènes exposés sur les tissus hôtes endommagés pourraient déclencher la voie classique (Song and FitzGerald, 2020).

6.8. La molécule C3 de système de complément

La protéine C3 du complément est la molécule centrale du système du complément et son activation est essentielle pour toutes les fonctions importantes de ce système. De plus, C3 Le composant commun des trois voies d'activation du complément, c'est-à-dire les voies classique, alternative et lectine, clivé par des complexes d'enzymes de conversion C3 (convertases C3) en ses fragments actifs C3a et C3b(Polycarpou *et al.*, 2020, p. 19).

Le complément C3 (180 kDa), la glycoprotéine β2, est l'un des membres de la superfamille des protéines contenant des thioesters (TEP) (Liu *et al.*, 2019). En comparaison avec d'autres composants du complément, le C3 se trouve en proportion la plus élevée dans le sérum et joue un rôle central dans le système du complément (Liu *et al.*, 2019). Depuis que C3 a été identifié pour la première fois en 1912, ses rôles dans la réponse immunitaire ont attiré beaucoup d'attention et ont été étudiés principalement chez les mammifères et d'autres espèces de vertébrés supérieurs.

Les cellules alvéolaires de type II sécrètent les composants du complément central C3 et C5 ainsi que les constituants de la voie classique/lectine C4 et C2, avec L'épithélium bronchique est une autre source du composant pivot C3(Polycarpou *et al.*, 2020, p. 19).

Après 40 ans de recherche, le C3 est connu pour fonctionner comme une épée à double tranchant. D'autre part, C3 favorise la phagocytose, soutient une réponse inflammatoire locale aux agents pathogènes et induit une réponse immunitaire adaptative pour sélectionner l'antigène approprié pour la réponse humorale... D'autre part, son activation chaotique entraîne des dommages à la cellule hôte. De plus, les interactions avec des protéines pathogènes étrangères peuvent fournir un mécanisme permettant à ces micro-organismes d'échapper à l'attaque du complément. Par conséquent, une connaissance claire des molécules et de leurs interactions au niveau moléculaire permet non seulement la conception rationnelle d'adjuvants moléculaires, mais conduit également au développement de nouveaux traitements pour les inhibiteurs du complément et les maladies infectieuses (Sahu and Lambris, 2001, p. 3; Liu *et al.*, 2019) (Wang *et al.*, 2021).

6.9. La structure de molécule C3

Le C3 humain, la protéine du complément la plus abondante dans le sérum (1,2 mg/ml), est composé de chaînes α et β reliées de manière covalente par une seule liaison disulfure et associées par des forces non covalentes.

La protéine est codée par un gène de 41 kb situé sur le chromosome 19. Le gène C3 est composé de 41 exons (dont la taille varie de 52 à 213 bases), dont 16 codent la chaîne β et 25 codent la chaîne α.

La structure primaire de C3 telle que déduite de la séquence d'ADNc se compose de 1 663 acides aminés, dont un peptide signal de 22 acides aminés.

C3 est synthétisé sous la forme d'une pré-pro-molécule à chaîne unique avec des chaînes α et β liées par une séquence de tétra-arginine, qui est éliminée par une enzyme de type furine lors de la modification post-traductionnelle; l'ordre des sous-unités est β – α. Suite à la translocation à travers le réticulum endoplasmique vers l'appareil de Golgi, des fragments glucidiques à haute teneur en mannose liés à N sont attachés aux résidus 917 de la chaîne α

(Man8GlcNac2¹Man9GlcNac2) et 63 de la chaîne β (Man5GlcNac2¹Man6GlcNac2) et représentent ensemble 1,5 % du poids moléculaire de C3. Un modèle de pont disulfure complet pour C3 a été déterminé : les chaînes α et β sont liées par un seul pont disulfure.

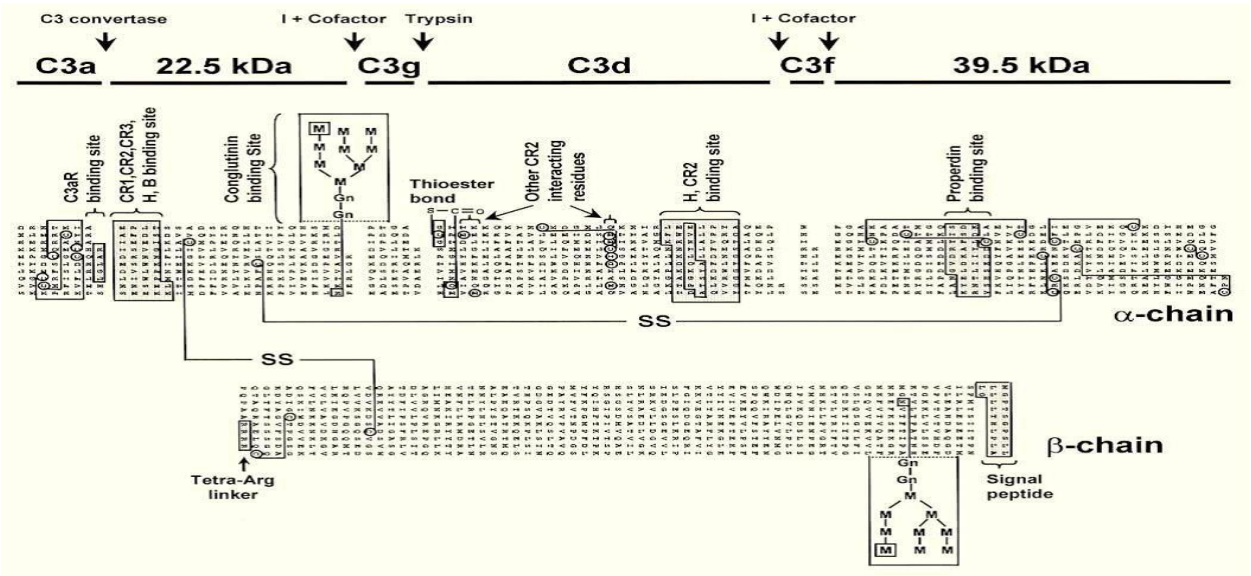


Figure 11: Représentation schématique de la structure de molécule C3.

6.10. Impact d'activation des molécule C3 de système du complément médiées par le SRAS-CoV-2

L'activation de C3 est nécessaire pour la protection contre l'infection par des virus hautement pathogènes et pour une clairance virale appropriée (Noris, Benigni and Remuzzi, 2020), Par exemple, C3 joue un rôle dans la détection et la désactivation des pathogènes intracellulaires (Java *et al.*, 2020).

Des produits d'activation de C3 (C3a, C3b, iC3b, C3c et C3dg) ont été observés dans les poumons dès 1 jour après l'infection par le SRAS-CoV-2(Java *et al.*, 2020), Dans une étude précédente concernant le SRAS-CoV-1, qui est étroitement lié au SRAS-CoV-2, il a été constaté que l'activation du composant C3 du complément exacerbe peut aggraver la maladie dans le SDRA associé au SRAS-CoV-2(Risitano *et al.*, 2020).

Une étude récente de préimpression a rapporté que des échantillons de biopsie pulmonaire de patients atteints de COVID-19 sévère ont montré une activation généralisée du complément, caractérisée par la génération de C3a et le dépôt de fragments de C3(Risitano *et al.*, 2020).

L'activation du système du complément provoque le dépôt de C3b - le grand fragment divisé du composant central C3 - sur la surface d'activation. Les cellules C3b-opsonisées peuvent être éliminées par le système phagocytaire ou C3b peut conduire au clivage de C5 et à la formation du complexe d'attaque membranaire (MAC) C5b-9, ce qui entraîne des lésions

cellulaires et la mort cellulaire. De plus, les petits fragments biologiquement actifs C3a et C5a sont des anaphylatoxines, qui recrutent et activent les leucocytes pour favoriser l'inflammation (Polycarpou *et al.*, 2020, p. 19).

L'activation de C3 est positionnée en amont de ces circuits immunitaires innés pro-inflammatoires qui contribuent à la thromboinflammation et aux dommages aux organes dans le COVID-19. Par conséquent, l'interception de C3 pourrait être une approche prometteuse pour inhiber largement l'activation du complément et contenir les réactions inflammatoires systémiques médiées par le complément qui peuvent alimenter une inflammation destructrice des tissus chez les patients COVID-19 (Mastaglio *et al.*, 2020).

7. Impact des inhibiteurs de molécule C3 sur les lésions tissulaires et l'inflammation

Les inhibiteurs du complément ne sont actuellement utilisés que dans des maladies humaines rares, telles que l'hémoglobinurie paroxystique (Risitano *et al.*, 2020).

Les inhibiteurs de C3 ne semblent pas être une option sûre pour les patients COVID-19, car ces médicaments empêcheront l'activation des 3 voies du complément en réponse aux infections virales. Les inhibiteurs de C5 bloquent la formation des produits terminaux communs aux 3 voies du complément, mais ces médicaments vont permettre l'activation de C3 et l'opsonisation des particules virales (Noris, Benigni and Remuzzi, 2020).

L'utilisation d'inhibiteurs de C3 peut entraîner une médiation plus efficace de l'inflammation que les inhibiteurs de C5(Santiesteban-Lores *et al.*, 2021). Cela suggère que l'inhibition de C3 peut également atténuer les complications pulmonaires inflammatoires de l'infection par le SRAS-CoV-2(Risitano *et al.*, 2020).

L'inhibition de C3 peut exercer un effet thérapeutique plus large chez les patients COVID19 en interceptant simultanément l'activation en amont (médiée par C3), l'amplification et l'activité de la voie terminale, empêchant ainsi non seulement la tempête de cytokines et l'inflammation pulmonaire, mais également la génération de NET et les microangiopathies thrombotiques ultérieures (Mastellos *et al.*, 2020).

L'inhibition de C3 et C5 a provoqué une réponse anti-inflammatoire robuste chez les patients COVID-19, marquée par une baisse rapide des niveaux de protéine C-réactive (CRP) qui a conduit à une normalisation 6 à 8 jours après le début du traitement (Mastellos *et al.*, 2020).

Une inhibition plus complète de C3 permet un meilleur contrôle inflammatoire du recrutement des leucocytes, de la libération des cytokines, de l'hyperactivation des lymphocytes et des voies thrombi-inflammatoires induites par les NET (Santiesteban-Lores *et al.*, 2021).

8. Traitement avec l'inhibiteur C3 à base de compstatine AMY-101

Une nouvelle génération d'inhibiteurs C3 hautement sélectifs et puissants, appelés compstatines AMY-101, sont développés cliniquement par Amyndas Pharmaceuticals pour

diverses indications médiées par le complément, Ces inhibiteurs peptidiques de C3 de petite taille, AMY-101 a été administré par voie intraveineuse (IV) par une perfusion veineuse périphérique à une dose de 5 mg/kg mg/Kg/jour, administrée comme dose de charge initiale administrée en 6 h ; aucun effet secondaire n'a été enregistré après la dose de charge (Mastaglio *et al.*, 2020). C'est l'un des dérivés de Compstatin, un peptide cyclique qui se lie à C3 et empêche l'action des convertases C3(Polycarpou *et al.*, 2020, p. 19).
L'inhibiteur du peptide cyclique C3 AMY-101 a été utilisé pour la première fois comme traitement expérimental chez un patient atteint de SDRA sévère dû au COVID-19(Santiesteban-Lores *et al.*, 2021).

Le traitement avec l'inhibiteur C3 à base de compstatine AMY-101 est sûr et associé à une évolution favorable chez un patient atteint de pneumonie sévère COVID-19 avec hyperinflammation systémique. Ces premiers résultats cliniques indiquent que l'inhibition de C3 a un potentiel en tant que nouvelle thérapie anti-inflammatoire dans le COVID-19 et ouvrent la voie à des essais prospectifs systématiques. C3, le régulateur principal de la signalisation du complément (Mastaglio *et al.*, 2020)**.**
L'inhibition du complément a effectivement inversé la lymphopénie associée au COVID-19, entraînant une récupération du nombre de lymphocytes sanguins au cours du traitement (Mastellos *et al.*, 2020).

L'inhibition de C3 a entraîné une augmentation transitoire plus prononcée du nombre de plaquettes chez les patients COVID19 avec une tendance à une augmentation plus importante du nombre de plaquettes entre le départ (jour 0) et le jour +8 dans la cohorte AMY-101(Mastellos *et al.*, 2020).
La réduction des NET chez tous les patients traités à l'AMY-101 au cours des 7 premiers jours de traitement (Mastellos *et al.*, 2020).
Les niveaux de C3a ont été significativement atténués chez les patients COVID-19 traités avec AMY-101, ce qui correspond à un blocage efficace de l'activité C3. Le traitement compassionnel d'un patient COVID-19 sévère avec l'AMY-101 thérapeutique C3 a abrogé le phénotype hyper-inflammatoire associé au SRAS-CoV-2, conduisant à une amélioration respiratoire et à la résolution du SDRA (Mastellos *et al.*, 2020).

Chapitre 2. Matériels et méthodes

1. Patients et témoins

Une population de 20 patients (6 hommes et 14 femmes) de moyenne d'âge de (47.9 ans), atteints de SARS-CoV-2 ou COVID-19 (Test sérologique positif, IgM positif) et 20 témoins sains contrôles matchés (6 Hommes et 16 femmes) de moyenne d'âge (47,8 ans) ont été sélectionnés pour cette étude. Ces malades sont choisis parmi un échantillonnage de patients recrutés au niveau des laboratoires d'analyses biomédicales des hôpitaux et privés des villes de Médéa et Blida (Hôpital Franz Fanon), Algérie.

2. Prélèvement sanguins

Le sang est collecté dans des tubes secs codés et numérotés pour chaque patient, après 10 minutes de chaque pris, les tubes sont centrifugés a 3000tour/min pendent 10 min. A l'aide D'une micropipette appropriée, le surnageant obtenu dit sérum, a été séparé puis séparé en trois fois dans des tubes eppendof et enfin congelés à -20°c.

3. 1ér étape : dosage des protéines totales : méthode du biuret

3.1. Principe

L'utilisation de la méthode de biuret pour le dosage des protéines est utilisée depuis 80 ans (Okutucu et al., 2007). Elle est préférée par les laboratoires cliniques pour sa simplicité, rapidité, fiabilité et spécificité (Shrivastaw et al., 1995). Le réactif de biuret utilisé est celui amélioré par Goodwin et al en 1965 (Goodwin et al., 1965). Le total protéique obtenu, sert dans la technique SDS-PAGE à connaitre la concentration des protéines qu'il faut mettre dans le puits pour la migration.

3.2. Technique :

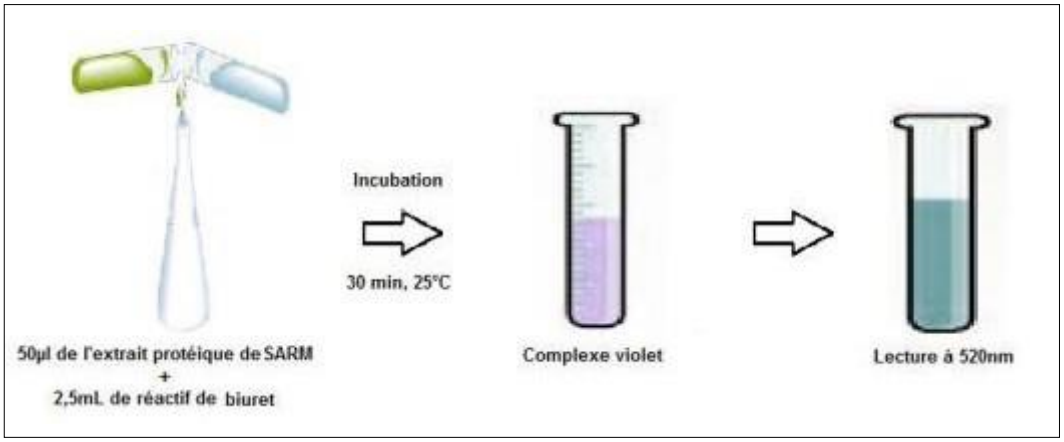


Figure 2.1 : Dosage des protéines totales (méthode de biuret).

3.3. Matériels :

-Etuve.

-Densitomètre Longueur d'onde principale 540 nm (520 nm - 560 nm).

-Tubes secs.

-Micropipette (5ml).

-Vortex.

3.4. Résultat

La D.O mesurée à 520 nm est de 0,22. La concentration protéique calculée est donc de 40g/L.

Réactifs.	**Concentration :**
Ingrédients actifs:	12 mmol / L
Sulfate de cuivre II.	32 mmol / L
Tartrate sodique de potassium.	30 mmol / L
Lodide de potassium.	600 mmol / L
Hydroxide de sodium.	
PH 13, 5 ± 0, 1 à 20 ° C.	

3.5. Mode opératoire

. Dans un premier tube « Blanc », on introduit une prise de 2,5 ml de solution de Biuret.

. Dans un deuxième tube « étalon », 2.5ml de solution de Biuret sont ajoutés à 50µl d'albumine, le mélange obtenu est soumis au vortex. Et dans un troisième tube « échantillon », 2,5ml de solution de Biuret sont additionnés à 50µl de sérum puis soumis au vortex.

. Le même protocole opératoire est répété pour les 24 patients et les 20 controles.

. Les tubes ainsi constitués sont maintenus sous 37 ° C dans une étuve pendant 15 minutes.

. Les concentrations des échantillons ont été obtenus par mesure colorimétrique des densités optiques à longueur d'onde maximale de 540nm.

4. 2éme étape : Electrophorèse des zones protéiques « HELENA »

L'électrophorèse des protéines sériques

Au cours du syndrome inflammatoire, on note des modifications des taux des protéines plasmatiques (Dubost et al. 1994; Weill et Batteux 2003). Certaines de ces modifications sont liées à l'activité de cytokines pro-inflammatoires, notamment l'IL-6 qui agit sur la synthèse protéique des hépatocytes. Le profil électrophorétique normal permet d'individualiser cinq fractions de l'anode vers la cathode (figure 8) :

1. L'albumine (40 à 50 g/L),
2. Les α1-globulines (1.5 à 4 g/L) qui comprennent l'α1-antitrypsine, l'orosomucoïde et l'α1-antichymotrypsine.
3. Les α2-globulines (6 à 10 g/L) qui comprennent notamment l'α2-macroglobuline, l'haptoglobine, la céruloplasmine.
4. Les β2-globulines (6 à 13 g/L) qui comprennent notamment la transferrine, le composant C3 du complément.
5. Les γ-globulines (7.5 à 16 g/L) qui comprennent les immunoglobulines.

On sait que le foie produit les protéines de mobilité plus rapide que les γ-globulines alors que le tissu lymphoïde sécrète les protéines migrant dans la zone des γ-globulines. Ceci permet de distinguer d'un seul coup d'oeil deux grands aspects p athologiques différents. L'électrophorèse des protéines peut confirmer le syndrome inflammatoire en cas d'augmentation des fractions α1 et α2 globulines associée à une hypoalbuminémie mais doit être obligatoirement complétée par le dosage quantitatif des protéines totales du sérum.

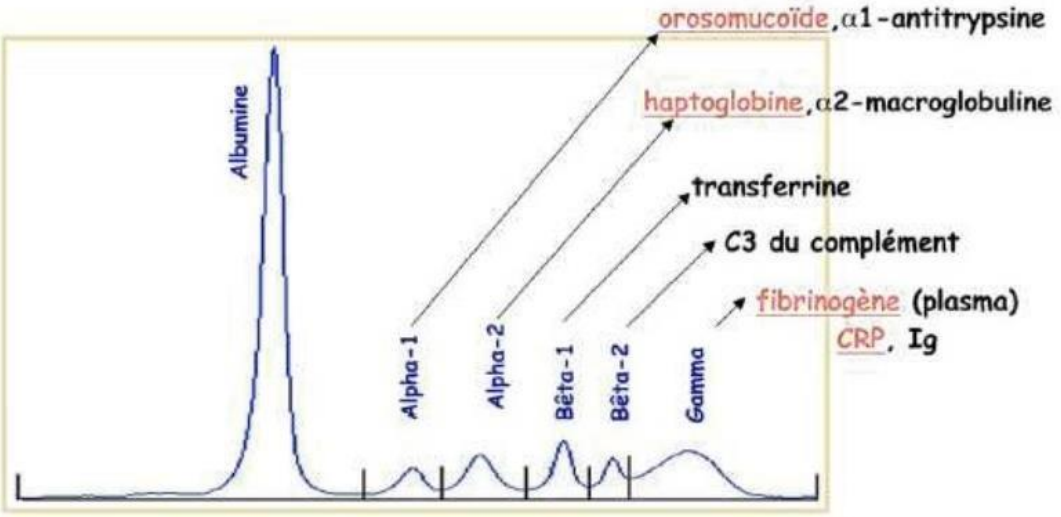


Figure 1.16 Profil électrophorétique normal (d'après Prin et al. 2009)

5. Technique de l'électrophorèse des protéines sérique

L'électrophorèse des protéines sériques permet la séparation des protéines du sang, sous l'influence d'un champ électrique. Elle permet de mettre en évidence des protéines anormales et de détecter une augmentation ou une baisse anormales de protéines dans le sang. L'augmentation de certaines protéines peut indiquer un syndrome inflammatoire.

5.1. Principe

Cette technique a pour but de séparer les protéines sériques en fonction de leur charge et leur volume. Sous l'influence d'un courant électrique en milieu tamponné et sur un support déterminé I « acétate de cellulose >>. Les bandes réalisées portent le nom de protéinogramme.

5.2. Matériels

ALIMENTATION PRCESS 24 HELENA	R - 1505HELENA
Densitomètre	
Chambre de migration (zip zone).	R - 1283 HELENA
Kit applicateur super Z pour huit applications.	R - 4084 HELENA
Pipette eppendorf	
Bac de coloration et portoirs	R - 5114 HELENA
Etuve	R - 5117 HELENA

Bande d'acétate de cellulose.	R - 3023 HELENA
Papiers buvards	R - 5034 HELENA
Minuterie	
Eau distillée	

5.3. Réactifs

Tampon d'électrophorèse « HR BUFFER » R - 5805 HELENA :

-Tris.

-Barbital.

-Barbital sodique.

Un (1) sachet est dilué dans 100ml d'eau distillée (tampon reconstitué, stable pendant deux mois lorsqu'il est conservé à la température ambiante) (le pH de la solution est de 8.6).

Rouge ponceau ; R - 5526HELENA.

Un (1) sachet est dilué dans 750ml d'eau distillée. Solution éclaircissante « clear Aid »R - 5005HELENA : Polyéthylène glycol (M W 400).

On prépare une solution contenant :

.67 % de méthanol pur.

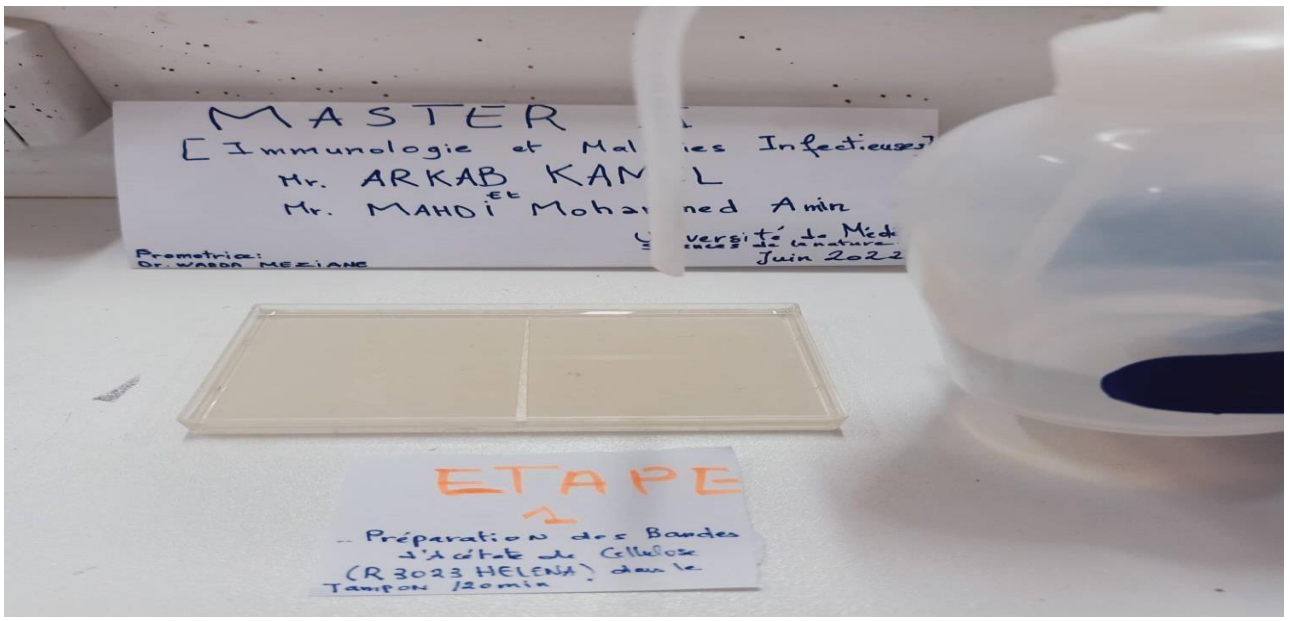
. 29 % d'acide acétique pur.

. 04 % de solution éclaircissante.

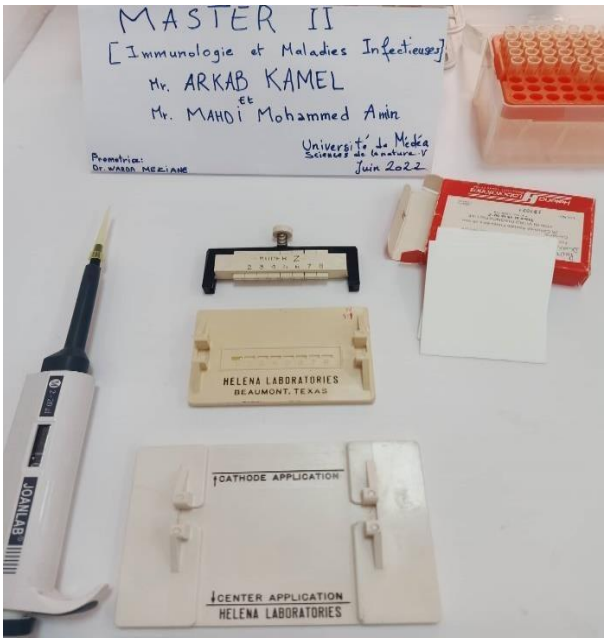
- Acide acétique dilué à 5 %.
- Méthanol pur.

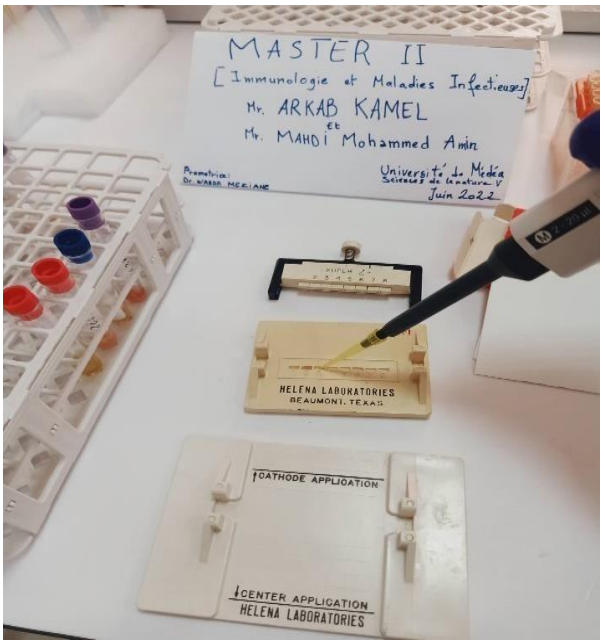
5.4. Mode opératoire

- Préparation des bandes : On trempe la bande d'acétate de cellulose (R 3023HELENA) dansla solution tampon pendant 20min.

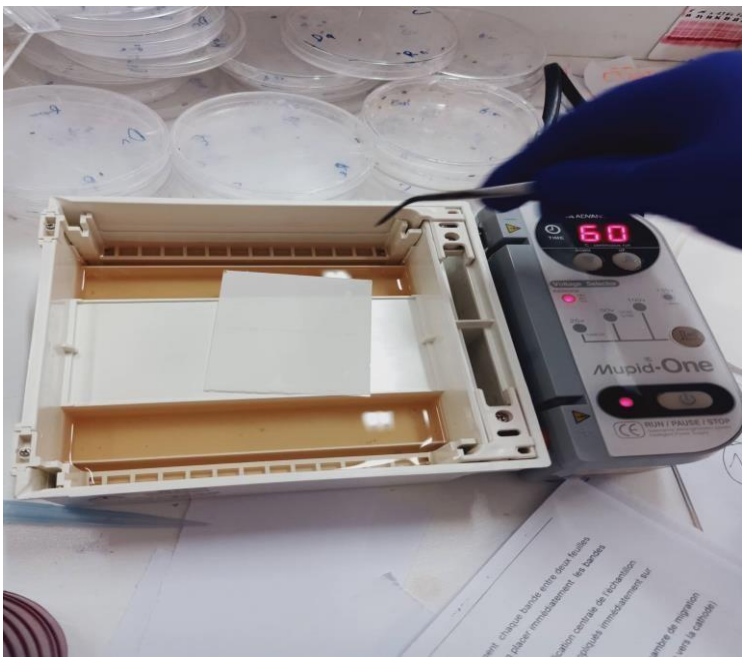


- En parallèle ; on distribue dans les huit (8) carités du support du kit application super Z. 10 µl de sérum.

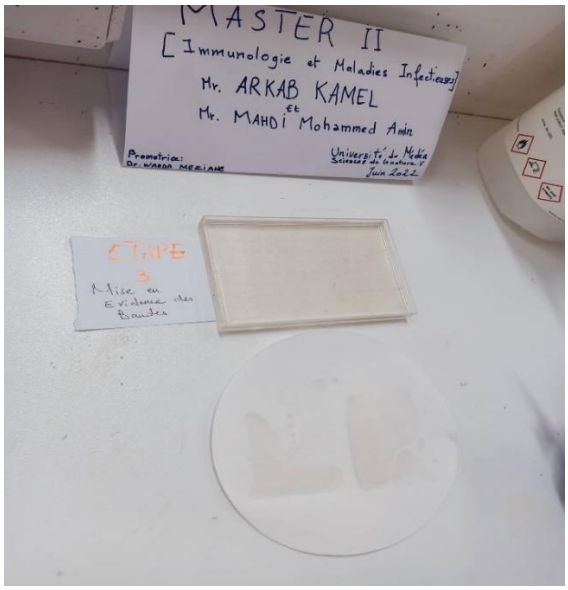


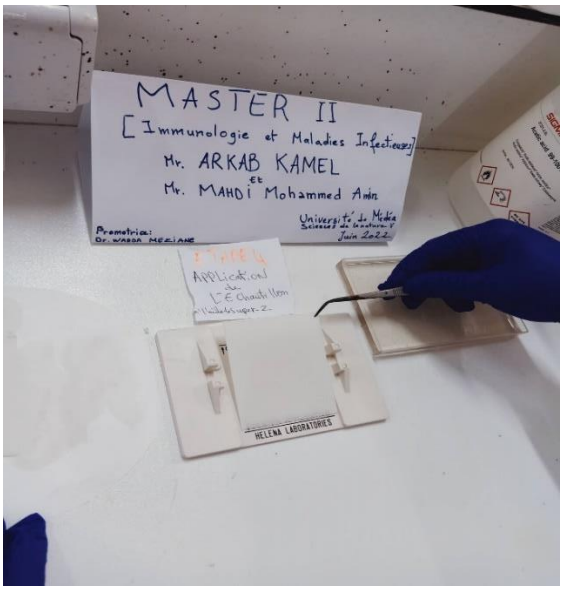


- Préparation de la cuve à l'électrophorèse : placer dans chaque compartiment de cuve le même volume de tampon (environ 100 ml).



- Mise en évidence des bandes sécher légèrement chaque bande entre deux feuilles de papier buvard pour éliminer l'excès de tampon placer immédiatement les bandes sur le support face absorbante vers le haut.

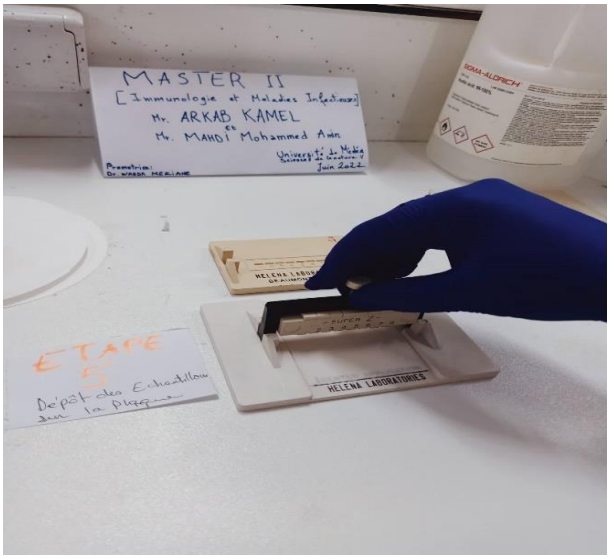


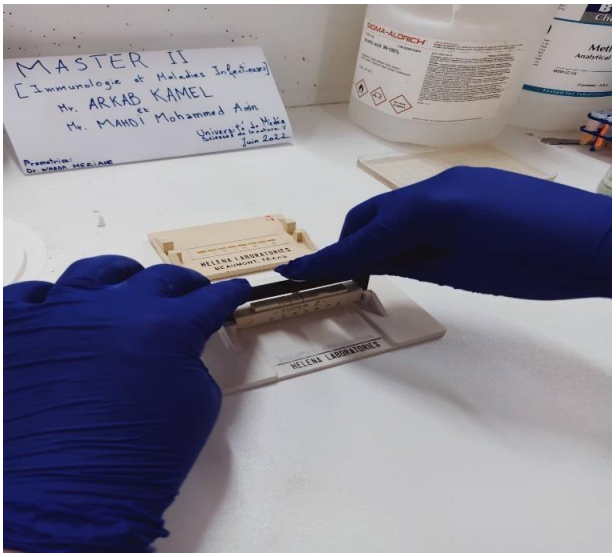


- A l'aide du kit application super Z, on exécute une application centrale de l'échantillonet on imprègne les sérums (3ul de chacun) qui seront appliqués immédiatement sur la bande d'acétate de cellulose.


MASTER II
[Immunologie et Maladies Infectieuses]
Mr. ARKAB KAMEL
Mr. MAHDI et Mohammed Amin
Promotrice:
Dr WASSA MERIANE
Juin 2022
ETAPE 5
Dépôt des Echantillon sur la Plaque
HELENA LABORATORIES
BEAUMONT, TEXAS

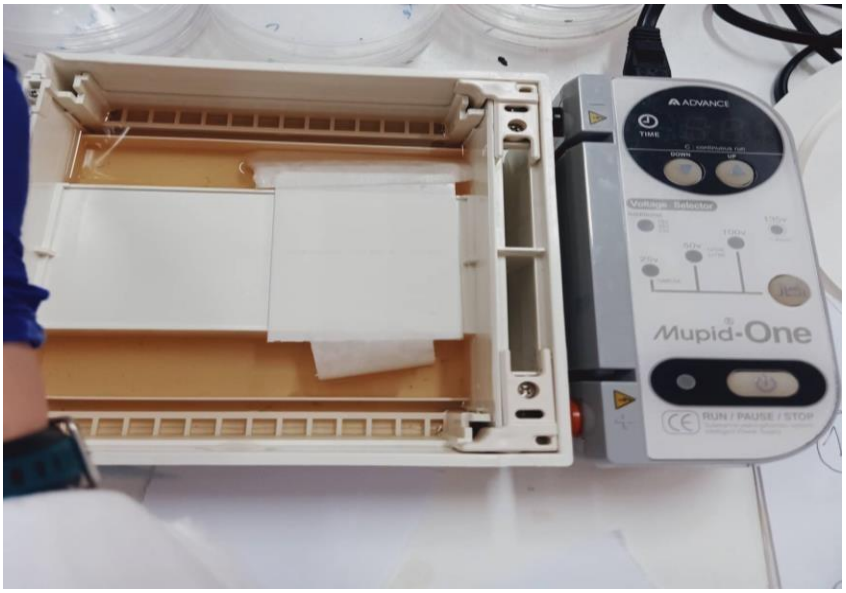

Immunologie et Maladies Infectieuses]
Mr. ARKAB KAMEL
Mr. MAHDI et Mohammed Amin
Promotrice:
Dr WASSA MERIANE
Juin 2022
HELENA LABORATORIES


MASTER II
[Immunologie et Maladies Infectieuses]
Mr. ARKAB KAMEL
Mr. MAHDI et Mohammed Amin
Promotrice:
Dr WASSA MERIANE
Juin 2022
ETAPE 5
Dépôt des Echantillon sur la Plaque
HELENA LABORATORIES

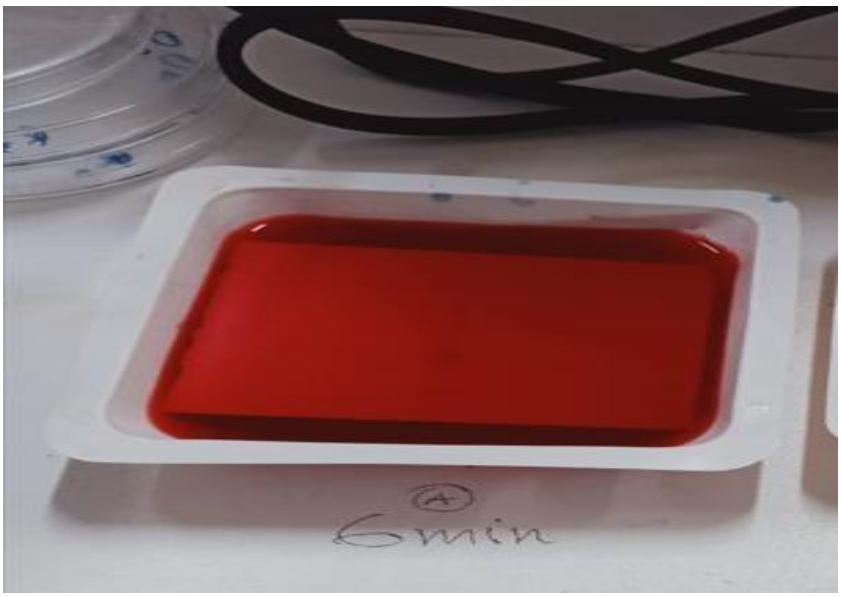

MASTER II
[Immunologie et Maladies Infectieuses]
Mr. ARKAB KAMEL
Mr. MAHDI et Mohammed Amin
Promotrice:
Dr WASSA MERIANE
Juin 2022
HELENA LABORATORIES


- SUPER Z -
HELENA LABORATORIES
BEAUMONT, TEXAS
HELENA LABORATORIES

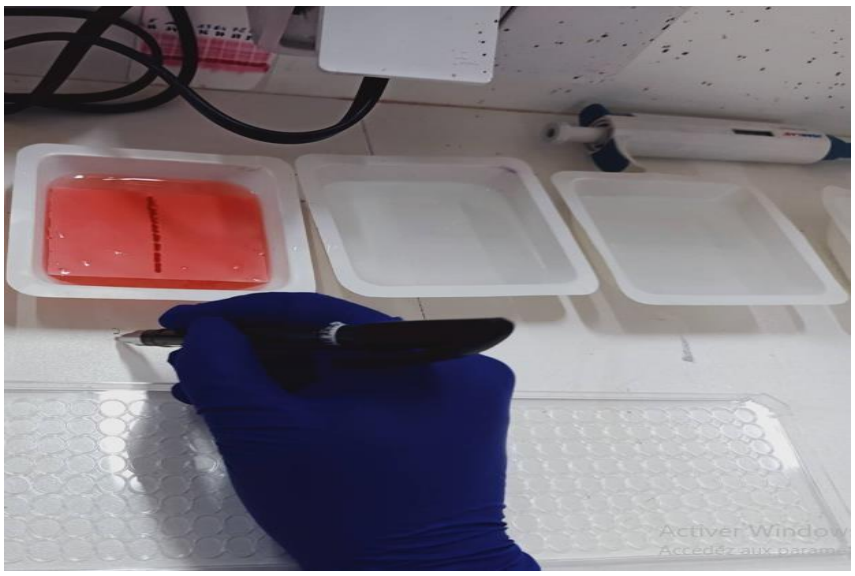
- La migration On place la bande d'acitate de cellulose dans la chambre de migration pendant 15min à 180volt (la bande est placée vers le bas, de l'anode vers la cathode) la migration se fait dans le sens (-) - (+) (La chambre de migration contient la même solution tampon).



- Fixation et coloration : On met, par la suite, la bande d'acétate de cellulose dans un bac contenant le rouge ponceau pendant 6min (c'est une étape de coloration son rôleest de colorer que les protéines sériques et il est le seul utilisé sur acétate de cellulose).



- Décoloration : On met la bande dans trois (3) bains successifs d'acide actique (5 %) 3min dans chaque bain.



- Déshydrations : On met la bande d'acétate de cellulose dans Deux (2) bains successifs de méthanol pur (pendant 3 à 4min) Transparisation : On transparise la plaque dans la solution méthanol - acide acétique solution éclaircissante, en y mettant la bande d'acitate de cellulose pendant 5 a 10min.

- On égoutte la bande en la plaçant verticalement dans un coin pendant 1min.
- On fait sécher la bande dans rétuve en prenant le soin mettre l'acétale vers le haut "pendant 10min entre 50 ° et 60 ° C

- On essuie parfaitement les deux faces de la plaque à l'aide de papier – buvard.
Dans le cas où la bande est claire et nette : elle laisse apparaitre les différentes fractions qui ont migrées (le cliché ci - après, présente une bande à huit (8) protidogrammes).

Chapitre 3. Résultats et interprétations

Le fractionnement électrophorétique par électrophorèse de zone a montré la présence d'un mélange de protéines sur l'électrophoregramme qui sont rapprochés qualitativement et quantitativement chez les patients comparés aux témoins.

Les niveaux circulants de protéines sériques sont légèrement inférieurs chez les patients infectés par sars-cov-2 comparés aux témoins sains non infectés. Mais les différences ne sont pas significatives (p=0.715 ; p>0.05).

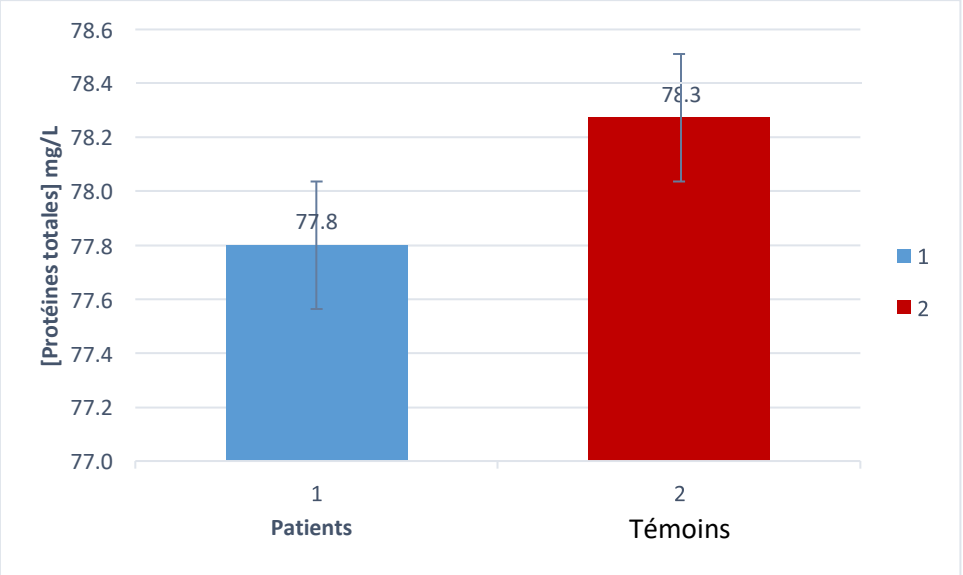
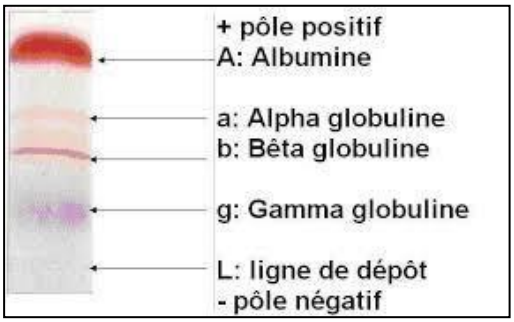
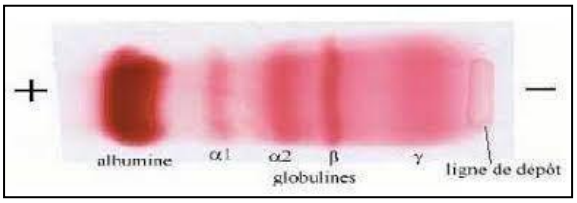


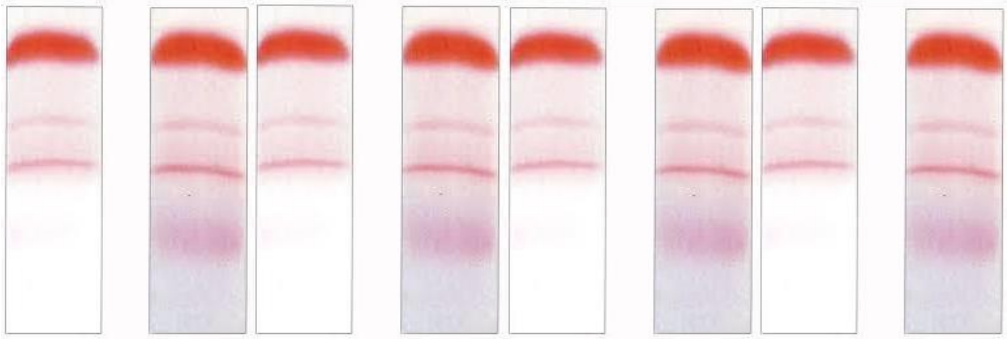
Figure 3.1. Niveaux circulants de protéines totales *chez les patients positifs à la COVID-19 (test sérologique IGM +).*

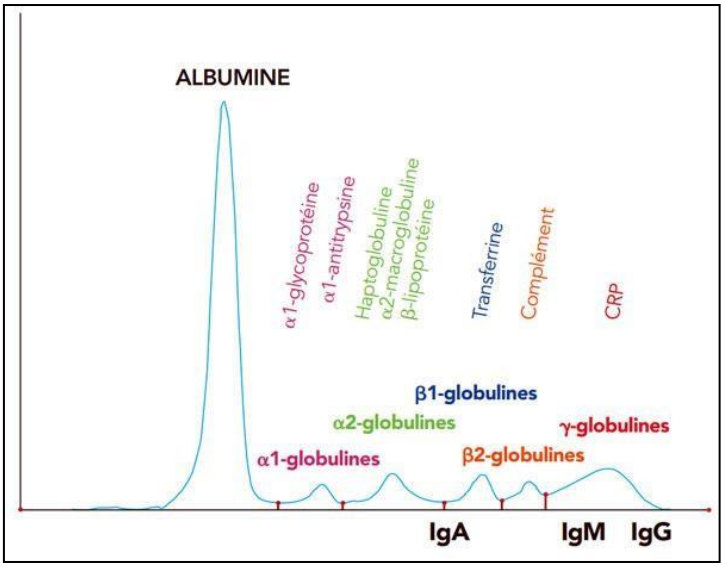
Independent Samples T-Test

	Test	Statistic	df	p
concentration proteines mg/L	Student	-0.098	38.000	0.923
	Welch	-0.098	31.739	0.923
	Mann-Whitney	186.000		0.715


+ pôle positif
A: Albumine
a: Alpha globuline
b: Bêta globuline
g: Gamma globuline
L: ligne de dépôt
- pôle négatif


+
albumine
α1
α2
β
γ
globulines
ligne de dépôt
—




ALBUMINE
α1-glycoprotéine
α1-antitrypsine
Haptoglobuline
α2-macroglobuline
β-lipoprotéine
Transferrine
Complément
CRP
β1-globulines
α2-globulines
γ-globulines
α1-globulines
β2-globulines
IgA
IgM
IgG

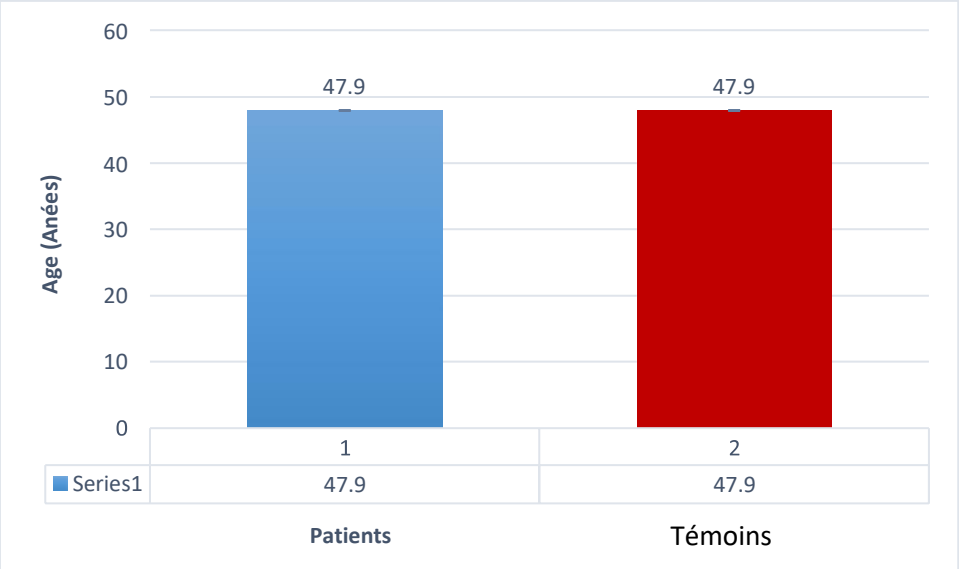


Figure 3.2. Figure représentant la comparaison des âges de la populationétudiée.

Chapitre 4. Discussion

Ce travail consiste en une étude qualitative et quantitative les taux sériques de la molécule C3 chez des sujets atteints d'infection covid-19(infectés par le SARS-CoV-2) à comparés aux sujets sains non infectés (non infecté par le SARS-CoV-2).

L'objectif est d'évaluer les taux circulants de complément C3 chez des sujets atteints de COVID-19 par rapport à des sujets sains au cours de la première semaine d'infection.

Le système du complément, un pont entre l'immunité innée et adaptative, peut identifier et éliminer les virus envahisseurs par opsonisation, favorisant les réponses immunitaires spécifiques au virus et neutralisant les virus acellulaires. Après activation, le complément mature C3 est clivé pour générer C3a et C3b. Un clivage supplémentaire de C3b produit iC3b, C3f, C3c, C3dg, C3d et C3g. C3 agit comme un point de convergence entre les trois voies complémentaires et joue un rôle central dans le processus d'activation du complément. Cela se traduit par l'amplification de la réponse complémentaire et aide à coordonner les réponses immunitaires en aval. Il est devenu évident que C3 participe à l'élimination des agents pathogènes et à une variété de processus homéostatiques, tels que la régénération tissulaire et le contrôle de la progression tumorale. (Ricklin *et al.*, 2016).

Le dosage des protéines totales est depuis longtemps utilisé en médecine afin de détecter des états inflammatoires (D.L. Dungworth 1985; J.J. Kaneko 1997). Les valeurs ainsi obtenues sont souvent complétées par un profil électrophorétique permettant de préciser quelles fractions de protéines ont vu leur concentration modifiée et ainsi essayer de préciser l'affection en cause.

En effet, les protéines sériques peuvent être subdivisées en deux grandes catégories (J.J. Kaneko 1997). L'albumine représente 35 à 50% des protéines totales chez les animaux et l'autre partie est constituée de globulines que l'on peut séparer en 04 groupes dont les β2-globulines (6 à 13 g/L) qui comprennent notamment la transferrine, le composant C3 du

complément.

Le métabolisme des protéines totales peut être affecté aussi bien par des facteurs physiologiques (stress, état nutritionnel...) que par des facteurs pathologiques (P-E. Laurent 1998).

En ce qui concerne les états d'hyperprotéinémie avec augmentation des fractions α et β de nombreuses études les ont mis en relation avec des phénomènes inflammatoires aigus (J.G. Conner et P.D. Eckersall 1998; J.G. Conner et al.,1989; P.D. Eckersall; 2000 A. Pfeffer et K.M. Rogers 1989; A. Pfeffer et al., 1993) ou chroniques (J.J. Kaneko 1997; W.D. Smith 1977). Cependant ces examens complémentaires restent peu spécifiques d'une affection.

L'implication de plusieurs organes a été décrite dans le cadre de COVID-19, des preuves cliniques et expérimentales émergentes indiquent que le complément joue un rôle clé dans la pathogenèse de COVID-19 et qu'il est devenu une cible d'intervention thérapeutique (Li and

Chen, 2021, p. 19).
Les niveaux de complément C3 et C4 étaient significativement plus élevés dans le groupe de patients que dans le groupe témoin et cette constatation était en accord avec Risitano (2020), qui a observé que les patients atteints de COVID-19 sévère présentaient une activation généralisée du complément, caractérisée par le C3a génération et dépôt de fragments C3. L'activation de C3 est positionnée en amont de ces circuits immunitaires innés pro-inflammatoires qui contribuent à la thrombo-inflammation et aux dommages aux organes dans le COVID-19.

Des études récentes menées par 38 ont montré que la forte coloration pour l'analyse immuno-histochimique du tissu pulmonaire de patients décédés de COVID-19, les composants du complément de la lectine de liaison au mannose C4, C3, dans les cellules épithéliales alvéolaires. Les réponses inflammatoires liées au COVID-19 pourraient également être induites par la dérégulation du système du complément, un composant essentiel de l'immunité innée de l'hôte. Bien qu'il vise à empêcher la réplication virale, l'activation excessive des composants du complément tels que C3, C3a, C5, C5a et la sérine protéase associée à la lectine de liaison au mannose (MASP2), éventuellement par des protéines virales, a été associée à une inflammation accrue à la fois dans le SRAS- Infections au CoV et au SRAS-CoV-2.

Le composant de complément du niveau C3 du patient infecté (SARS-CoV-29) était (2,47 ± 0,399 g/l), respectivement très élevé par rapport à la plage normale (0,9-1,8) g/L (Aljwaid *et al.*, 2021).
Une étude récente sur le SRAS-CoV, qui est étroitement lié au SRAS-CoV-2, a révélé que l'activation du composant C3 du complément exacerbe la maladie dans le SDRA associé au SRAS-CoV. Les souris déficientes en C3 infectées par le SRAS-CoV présentaient moins de dysfonctionnement respiratoire, malgré des charges virales équivalentes dans les poumons, et cela était associé à une diminution de l'infiltration pulmonaire des neutrophiles et des monocytes inflammatoires et à des niveaux inférieurs de cytokines et de chimiokines dans les poumons et le sérum (Polycarpou *et al.*, 2020). Des études autoptiques chez des patients atteints de COVID-19 ont montré l'accumulation de composants du complément dans les poumons et les reins, et des preuves concomitantes de lésions tissulaires dans ces organes, confirmant le rôle néfaste d'une activation excessive du complément dans ce groupe (. Cette dernière est susceptible d'impliquer la contribution de C3b, un produit des convertases C3, à la formation des convertases C5 du complément (Magro *et al.*, 2020).

Chapitre 5. Conclusions et perspectives

Le complément est un acteur clé de l'immunité protectrice contre les agents pathogènes, mais son activation excessive ou dérégulée peut entraîner des lésions des tissus collatéraux. Cependant, les inhibiteurs du complément ne sont actuellement utilisés que dans des maladies humaines rares.

Avec l'avènement de l'infection au COVID-19, de nombreuses études ont amélioré nos connaissances sur les réponses immunitaires au coronavirus, telles que les réponses immunitaires innées et adaptatives et l'immunité humorale. Cependant, le mécanisme exact de la réponse immunitaire et la pathologie immunitaire induite par le SRAS-CoV-2 restent inconnus.

Notre étude conclue la présence de mélange de protéines qualitativement et quantitativement comparables chez les patients atteints d’infection à SARS-Cov-2 (Test sérlogique positif, IgM +) comparés aux témoins sains ; résultats révélés par électrophorèse de zone. De plus les taux circulants de protéines totales sérique sont légèrement différents chez les deux groupes étudiés. Nonobstant, les différences ne présentent pas de significationstatistiquement en appliquant le test T de Student (p value < 0.05).

Chapitre 6. Bibliographie

Admou, B. (2021) ‘COVID-19 et marqueurs immunologiques pertinents’, Pan African Medical Journal, 39. doi:10.11604/pamj.2021.39.40.23481.

Alouane, T. et al. (2020) ‘Genomic Diversity and Hotspot Mutations in 30,983 SARS-CoV-2 Genomes: Moving Toward a Universal Vaccine for the “Confined Virus”?’, Pathogens, 9(10), p. 829. doi:10.3390/pathogens9100829.

Astuti, I. and Ysrafil (2020) ‘Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response’, Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews, 14(4), pp. 407–412. doi:10.1016/j.dsx.2020.04.020.

Barnes, B.J. et al. (2020) ‘Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps’, Journal of Experimental Medicine, 217(6), p. e20200652. doi:10.1084/jem.20200652.

Bertholom, C. (2021) ‘Réponse immunitaire associée au Sars-CoV-2’, Option/Bio, 32(627–628), pp. 15–17. doi:10.1016/S0992-5945(21)00018-0.

Bestle, D. et al. (2020) ‘TMPRSS2 and furin are both essential for proteolytic activation of SARS-CoV-2 in human airway cells’, Life Science Alliance, 3(9), p. e202000786. doi:10.26508/lsa.202000786.

Bonnin, A. (no date) ‘Caractérisation de la protéine S du coronavirus humain 229E’, p. 171.

Bonny, V. et al. (2020) ‘COVID-19 : physiopathologie d’une maladie à plusieurs visages’, La Revue de Médecine Interne, 41(6), pp. 375–389. doi:10.1016/j.revmed.2020.05.003.

Boopathi, S., Poma, A.B. and Kolandaivel, P. (2020) ‘Novel 2019 coronavirus structure, mechanism of action, antiviral drug promises and rule out against its treatment’, Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, pp. 1–10. doi:10.1080/07391102.2020.1758788.

Chan, J.F.-W. et al. (2020) ‘Improved Molecular Diagnosis of COVID-19 by the Novel, Highly Sensitive and Specific COVID-19-RdRp/Hel Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay Validated In Vitro and with Clinical Specimens’, Journal of Clinical Microbiology. Edited by A.J. McAdam, 58(5), pp. e00310-20. doi:10.1128/JCM.00310-20.

Chouaki Benmansour, N., Carvelli, J. and Vivier, É. (2021) ‘Implication de la cascade du complément dans les formes sévères de COVID-19’, médecine/sciences, 37(4), pp. 333–341. doi:10.1051/medsci/2021021.

Codo, A.C. et al. (2020) ‘Elevated Glucose Levels Favor SARS-CoV-2 Infection and Monocyte Response through a HIF-1α/Glycolysis-Dependent Axis’, Cell Metabolism, 32(3), pp. 437-446.e5. doi:10.1016/j.cmet.2020.07.007.

COVID19 : mutations, variants, lignées, N501Y, E484K… de quoi parleton ? (no date) VIDAL. Available at: https://www.vidal.fr/actualites/26672-covid-19-mutations-variants-lignees-n501y-e484k-de-quoi-parle-t-on.html (Accessed: 24 May 2022).

Dan, J.M. et al. (2021) 'Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection', Science, 371(6529), p. eabf4063. doi:10.1126/science.abf4063.

Defendi, F. et al. (2020) 'The Immunopathology of Complement Proteins and Innate Immunity in Autoimmune Disease', Clinical Reviews in Allergy & Immunology, 58(2), pp. 229–251. doi:10.1007/s12016-019-08774-5.

Diamond, M.S. and Kanneganti, T.-D. (2022) 'Innate immunity: the first line of defense against SARS-CoV-2', Nature Immunology, 23(2), pp. 165–176. doi:10.1038/s41590-021-01091-0.

Feng, W. et al. (2020) 'Molecular Diagnosis of COVID-19: Challenges and Research Needs', Analytical Chemistry, 92(15), pp. 10196–10209. doi:10.1021/acs.analchem.0c02060.

Gaikwad, H. et al. (2022) 'Antibody-Dependent Complement Responses toward SARS-CoV-2 Receptor-Binding Domain Immobilized on "Pseudovirus-like" Nanoparticles', ACS Nano, p. acsnano.2c02794. doi:10.1021/acsnano.2c02794.

Gralinski, L.E. and Menachery, V.D. (2020) 'Return of the Coronavirus: 2019-nCoV', Viruses, 12(2), p. 135. doi:10.3390/v12020135.

Guo, L. et al. (2020) 'Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19)', Clinical Infectious Diseases, 71(15), pp. 778–785. doi:10.1093/cid/ciaa310.

He, X. et al. (2021) 'SARS-CoV-2 Omicron variant: Characteristics and prevention', MedComm, 2(4), pp. 838–845. doi:10.1002/mco2.110.

Hozhabri, H. et al. (2020) 'The Global Emergency of Novel Coronavirus (SARS-CoV-2): An Update of the Current Status and Forecasting', International Journal of Environmental Research and Public Health, 17(16), p. 5648. doi:10.3390/ijerph17165648.

Jackson, C.B. et al. (2022) 'Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells', Nature Reviews Molecular Cell Biology, 23(1), pp. 3–20. doi:10.1038/s41580-021-00418-x.

Jarlhelt, I. et al. (2021) 'SARS-CoV-2 Antibodies Mediate Complement and Cellular Driven Inflammation', Frontiers in Immunology, 12, p. 767981. doi:10.3389/fimmu.2021.767981.

Java, A. et al. (2020) 'The complement system in COVID-19: friend and foe?', JCI Insight, 5(15), p. e140711. doi:10.1172/jci.insight.140711.

Kadam, S.B. et al. (2021) 'SARS-CoV-2, the pandemic coronavirus: Molecular and structural insights', Journal of Basic Microbiology, 61(3), pp. 180–202. doi:10.1002/jobm.202000537.

Kalil, A.C. (2020) 'Treating COVID-19—Off-Label Drug Use, Compassionate Use, and Randomized Clinical Trials During Pandemics', JAMA, 323(19), p. 1897. doi:10.1001/jama.2020.4742.

Kannan, S. et al. (2020) 'COVID-19 (Novel Coronavirus 2019) – recent trends', European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 24(4), pp. 2006–2011. doi:10.26355/eurrev_202002_20378.

Kim, D. et al. (2020) 'The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome', Cell, 181(4), pp. 914-921.e10. doi:10.1016/j.cell.2020.04.011.

Kin, N. and Vabret, A. (2016) 'Les infections à coronavirus humains', Revue Francophone des Laboratoires, 2016(487), pp. 25–33. doi:10.1016/S1773-035X(16)30369-0.

Kirtipal, N., Bharadwaj, S. and Kang, S.G. (2020) 'From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses', Infection, Genetics and Evolution, 85, p. 104502. doi:10.1016/j.meegid.2020.104502.

Knoll, R., Schultze, J.L. and Schulte-Schrepping, J. (2021) 'Monocytes and Macrophages in COVID-19', Frontiers in Immunology, 12, p. 720109. doi:10.3389/fimmu.2021.720109.

Le Monde.fr (2020) 'L'Algérie se mobilise face aux trois cas de Covid-19', 3 March. Available at: https://www.lemonde.fr/afrique/article/2020/03/03/l-algerie-se-mobilise-face-aux-trois-cas-de-covid-19_6031670_3212.html (Accessed: 10 May 2022).

Le point sur les variants du Coronavirus Covid19 (no date). Available at: https://www.cerballiance.fr/fr/blog/actualites/le-point-sur-les-variants-du-coronavirus-covid19 (Accessed: 24 May 2022).

Lefeuvre, C., Przyrowski, É. and Apaire-Marchais, V. (2020) 'Aspects virologiques et diagnostic du coronavirus Sars-CoV-2', Actualités Pharmaceutiques, 59(599), pp. 18–23. doi:10.1016/j.actpha.2020.08.005.

Ling, M. and Murali, M. (2019) 'Analysis of the Complement System in the Clinical Immunology Laboratory', Clinics in Laboratory Medicine, 39(4), pp. 579–590. doi:10.1016/j.cll.2019.07.006.

Liu, Y. et al. (2019) 'A novel complement C3 like gene (Lv-C3L) from Litopenaeus vannamei with bacteriolytic and hemolytic activities and its role in antiviral immune response', Fish & Shellfish Immunology, 91, pp. 376–387. doi:10.1016/j.fsi.2019.05.045.

Lotfi, R., Kalmarzi, R.N. and Roghani, S.A. (2021) 'A review on the immune responses against novel emerging coronavirus (SARS-CoV-2)', Immunologic Research, 69(3), pp. 213–224. doi:10.1007/s12026-021-09198-0.

Maccio, U. et al. (2021) 'SARS-CoV-2 leads to a small vessel endotheliitis in the heart', EBioMedicine, 63, p. 103182. doi:10.1016/j.ebiom.2020.103182.

Maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) : comment se transmet la COVID-19 ? (no date). Available at: https://www.who.int/fr/news-room/questions-and-answers/item/coronavirus-disease-covid-19-how-is-it-transmitted (Accessed: 15 May 2022).

Malone, B. et al. (2022) 'Structures and functions of coronavirus replication–transcription complexes and their relevance for SARS-CoV-2 drug design', Nature Reviews Molecular Cell Biology, 23(1), pp. 21–39. doi:10.1038/s41580-021-00432-z.

Marques-Pereira, C. et al. (2022) 'SARS-CoV-2 Membrane Protein: From Genomic Data to Structural New Insights', International Journal of Molecular Sciences, 23(6), p. 2986. doi:10.3390/ijms23062986.

Mastaglio, S. et al. (2020) 'The first case of COVID-19 treated with the complement C3 inhibitor AMY-101', Clinical Immunology, 215, p. 108450. doi:10.1016/j.clim.2020.108450.

Mastellos, D.C. et al. (2020) 'Complement C3 vs C5 inhibition in severe COVID-19: Early clinical findings reveal differential biological efficacy', Clinical Immunology, 220, p. 108598. doi:10.1016/j.clim.2020.108598.

Merad, M. and Martin, J.C. (2020) 'Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages', Nature Reviews Immunology, 20(6), pp. 355–362. doi:10.1038/s41577-020-0331-4.

Mohammed, R.N. et al. (2022) 'A comprehensive review about immune responses and exhaustion during coronavirus disease (COVID-19)', Cell Communication and Signaling, 20(1), p. 79. doi:10.1186/s12964-022-00856-w.

Murgolo, N. et al. (2021) 'SARS-CoV-2 tropism, entry, replication, and propagation: Considerations for drug discovery and development', PLOS Pathogens. Edited by T.C. Hobman, 17(2), p. e1009225. doi:10.1371/journal.ppat.1009225.

Nimesh, S. et al. (2020) 'Corona Virus: An Immunological Perspective Review', International Journal of Immunology and Immunotherapy, 7(2). doi:10.23937/2378-3672/1410050.

Noris, M., Benigni, A. and Remuzzi, G. (2020) 'The case of complement activation in COVID-19 multiorgan impact', Kidney International, 98(2), pp. 314–322. doi:10.1016/j.kint.2020.05.013.

Palacios Cruz, M. et al. (2021) 'COVID-19, una emergencia de salud pública mundial', Revista Clínica Española, 221(1), pp. 55–61. doi:10.1016/j.rce.2020.03.001.

Pedersen, S.F. and Ho, Y.-C. (2020) 'SARS-CoV-2: a storm is raging', Journal of Clinical Investigation, 130(5), pp. 2202–2205. doi:10.1172/JCI137647.

Polycarpou, A. et al. (2020) 'Rationale for targeting complement in COVID-19', EMBO Molecular Medicine, 12(8). doi:10.15252/emmm.202012642.

Ramlall, V. et al. (2020) 'Immune complement and coagulation dysfunction in adverse outcomes of SARS-CoV-2 infection', Nature Medicine, 26(10), pp. 1609–1615. doi:10.1038/s41591-020-1021-2.

Reusch, N. et al. (2021) 'Neutrophils in COVID-19', Frontiers in Immunology, 12, p. 652470. doi:10.3389/fimmu.2021.652470.

Risitano, A.M. et al. (2020) 'Complement as a target in COVID-19?', Nature Reviews Immunology, 20(6), pp. 343–344. doi:10.1038/s41577-020-0320-7.

Sahu, A. and Lambris, J.D. (2001) 'Structure and biology of complement protein C3, a connecting link between innate and acquired immunity: Structure and biology of C3', Immunological Reviews, 180(1), pp. 35–48. doi:10.1034/j.1600-065X.2001.1800103.x.

Sanders, J.M. et al. (2020) 'Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review', JAMA [Preprint]. doi:10.1001/jama.2020.6019.

Santana-Clavijo, N.F. and Brandão, P.E. (2021) 'Emergence of Avian coronavirus genotype GI-11 in Colombia', Brazilian Journal of Microbiology, 52(1), pp. 455–459. doi:10.1007/s42770-020-00394-y.

Santiesteban-Lores, L.E. et al. (2021) 'A double edged-sword - The Complement System during SARS-CoV-2 infection', Life Sciences, 272, p. 119245. doi:10.1016/j.lfs.2021.119245.

Schartz, N.D. and Tenner, A.J. (2020) 'The good, the bad, and the opportunities of the complement system in neurodegenerative disease', Journal of Neuroinflammation, 17(1), p. 354. doi:10.1186/s12974-020-02024-8.

Sethuraman, N., Jeremiah, S.S. and Ryo, A. (2020) 'Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2', JAMA, 323(22), p. 2249. doi:10.1001/jama.2020.8259.

Sette, A. and Crotty, S. (2021) 'Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19', Cell, 184(4), pp. 861–880. doi:10.1016/j.cell.2021.01.007.

Sohrabi, C. et al. (2020) 'World Health Organization declares global emergency: A review of the 2019 novel coronavirus (COVID-19)', International Journal of Surgery, 76, pp. 71–76. doi:10.1016/j.ijsu.2020.02.034.

Song, W.-C. and FitzGerald, G.A. (2020) 'COVID-19, microangiopathy, hemostatic activation, and complement', Journal of Clinical Investigation, p. 10.1172/JCI140183. doi:10.1172/JCI140183.

Sophie, T. (2020) 'Aspects immunologiques et virologiques de l'infection par le SARS-CoV-2', p. 135.

Tahamtan, A. and Ardebili, A. (2020) 'Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results', Expert Review of Molecular Diagnostics, 20(5), pp. 453–454. doi:10.1080/14737159.2020.1757437.

Tilocca, B. et al. (2020) 'Immunoinformatic analysis of the SARS-CoV-2 envelope protein as a strategy to assess cross-protection against COVID-19', Microbes and Infection, 22(4–5), pp. 182–187. doi:10.1016/j.micinf.2020.05.013.

To, K.K.-W. et al. (2020) 'Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study', The Lancet Infectious Diseases, 20(5), pp. 565–574. doi:10.1016/S1473-3099(20)30196-1.

Torres, J.L. et al. (2022) 'Structural insights of a highly potent pan-neutralizing SARS-CoV-2 human monoclonal antibody', Proceedings of the National Academy of Sciences, 119(20), p. e2120976119. doi:10.1073/pnas.2120976119.

Vabret, A. et al. (2009) 'Coronavirus humains (HCoV)', Pathologie Biologie, 57(2), pp. 149–160. doi:10.1016/j.patbio.2008.02.018.

Velavan, T.P. and Meyer, C.G. (2021) 'COVID-19: A PCR-defined pandemic', International Journal of Infectious Diseases, 103, pp. 278–279. doi:10.1016/j.ijid.2020.11.189.

Velavan, T.P., Pallerla, S.R. and Kremsner, P.G. (2021) 'How to (ab)use a COVID-19 antigen rapid test with soft drinks?', International Journal of Infectious Diseases, 111, pp. 28–30. doi:10.1016/j.ijid.2021.08.023.

Wang, D. et al. (2020) 'Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China', JAMA, 323(11), p. 1061. doi:10.1001/jama.2020.1585.

Wang, Q. et al. (2020) 'Structural Basis for RNA Replication by the SARS-CoV-2 Polymerase', Cell, 182(2), pp. 417-428.e13. doi:10.1016/j.cell.2020.05.034.

Wang, Z. et al. (2021) 'Molecular Characterization of Complement Component 3 (C3) in the Pearl Oyster Pinctada fucata Improves Our Understanding of the Primitive Complement System in Bivalve', Frontiers in Immunology, 12, p. 652805. doi:10.3389/fimmu.2021.652805.

Warwick, C.A. et al. (2021) 'The complement cascade in the regulation of neuroinflammation, nociceptive sensitization, and pain', Journal of Biological Chemistry, 297(3), p. 101085. doi:10.1016/j.jbc.2021.101085.

Wu, F. et al. (2020) 'A new coronavirus associated with human respiratory disease in China', Nature, 579(7798), pp. 265–269. doi:10.1038/s41586-020-2008-3.

Xiao, A.T., Gao, C. and Zhang, S. (2020) 'Profile of specific antibodies to SARS-CoV-2: The first report', Journal of Infection, 81(1), pp. 147–178. doi:10.1016/j.jinf.2020.03.012.

Xu, J. et al. (2020) 'Systematic Comparison of Two Animal-to-Human Transmitted Human Coronaviruses: SARS-CoV-2 and SARS-CoV', Viruses, 12(2), p. 244. doi:10.3390/v12020244.

Yadav, R. et al. (2021) 'Role of Structural and Non-Structural Proteins and Therapeutic Targets of SARS-CoV-2 for COVID-19', Cells, 10(4), p. 821. doi:10.3390/cells10040821.

Yan, R. et al. (2020) 'Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2', Science, 367(6485), pp. 1444–1448. doi:10.1126/science.abb2762.

Zhang, L. et al. (2021) 'ACE2 in the second act of COVID-19 syndrome: Peptide dysregulation and possible correction with oestrogen', Journal of Neuroendocrinology, 33(2). doi:10.1111/jne.12935.

Zhou, Y. et al. (2020) 'Pathogenic T-cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe COVID-19 patients', National Science Review, 7(6), pp. 998–1002. doi:10.1093/nsr/nwaa041.

Zhu, N. et al. (2020) 'A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019', New England Journal of Medicine, 382(8), pp. 727–733. doi:10.1056/NEJMoa2001017.

Zou, L. et al. (2020) 'SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients', New England Journal of Medicine, 382(12), pp. 1177–1179. doi:10.1056/NEJMc2001737.

EVALUATION DU SYSTÈME DU COMPLEMENT - MOLÉCULE C3, AUCOURS DE L'INFECTION PAR SARS-CoV-2

ARKAB Kamel & MAHDI Mohammed Amin, Université Yahia Farès de Médéa – 2022
MASTER II, Spécialité : Immunologie et Maladies Infectieuses

RESUMÉ

Introduction

Objectifs

Matériels et méthodes

Résultats

Conclusion

Mots clés

Résumé

Introduction : La COVID-19 (COronaVIrus Disease 2019) est une infection respiratoire virale qui a émergé en 2019 à Wuhan en Chine. Le virus qui en est responsable est le SARS-CoV-2, qui appartient à la famille des Coronaviridae. SARS-CoV-2 est capable d'activer la réponse immunitaire inné ainsi que l'adaptative. Le système du complément est un ensemble de protéines plasmatiques et membranaires impliqué dans l'immunité innée. Il fait intervenir protéine C3 qui est la composante centrale des trois voies d'activation de ce système ; dont les rôles sont divers : Formation du complexe d'attaque membranaire (MAC) responsable de la lyse des pathogènes, recrutement des phagocytes, opsonisation et augmentation de la phagocytose avec amplification de la réponse inflammatoire, destruction des agents infectieux, élimination de complexes immuns, et le contrôle de la réponse immune spécifique. Les protéines totales sont depuis longtemps utilisé en médecine afin de détecter des états inflammatoires (D.L. Dungworth 1985; J.J. Kaneko 1997). Les valeurs ainsi obtenues sont souvent complétées par un profil électrophorétique permettant de préciser quelles fractions de protéines ont vu leur concentration modifiée et ainsi essayer de préciserl'affection en cause. La molécule C3 du complément en est un élément essentiel de la réponse immunitaire de l'hôte contre les infections virales. C3 fait partie de la fraction β2-globulines (6 à 13 g/L) définie sur l'electrophoregramme.

Néanmoins, l'activation du complément et la l'augmentation non contrôlée de l'inflammation via l'amplification des signaux de danger contre les antigènes a des effets cytotoxiques directs ; telle récemment rapporté, des preuves d'un dépôt de complément dans la microcirculation pulmonaire endommagée par le SRAS-CoV-2, renforçant encore l'idée que, dans les cas graves de COVID-19, l'activation du complément est un acteur primordial, générant des lésions tissulaires hémorragiques destructrices de type capillarite, caillots, et hyper inflammation, ce qui est en partie cause de l'aggravation pathologique.

De ce fait, l'investigation de la molécule C3 du complément représente élément d'une ample pertinence scientifique dans le cas le cas de l'infection à covid-19. **Objectifs :** La présente étude a pour objet d'évaluer qualitativement et quantitativement les taux sériques de la molécule C3 chez des sujets atteints d'infection covid-19 à comparés aux sujets sains non infectés ; Ainsi que de déterminer les taux sériques en protéines totales par méthode de Gornal.

But : Évaluer les taux circulant de la molécule C3 du complément, chez les sujets atteint de la COVID-19 comparés aux sujets sains, lors de la première semaine de l'infection.

Matériels et Méthodes : Une population de 20 patients (6 hommes et 14 femmes) de moyenne d'âge de (47.9 ans), atteints de SARS-CoV-2 ou COVID-19 (Test sérologique positif, IgM positif) et 20 témoins sains contrôles matchés (6 Hommes et 16 femmes) de moyenne d'âge (47,8 ans) ont été sélectionnés pour cette étude. Ces malades sont choisis parmi un échantillonnages de patients recrutés au niveau des laboratoires d'analyses biomédicales des hôpitaux et privés des villes de Médéa et Blida (Hôpital Franz Fanon), Algérie.

Résultats : Le fractionnement électrophorétique par électrophorèse de zone a montré la présence d'un mélange de protéines sur l'électrophoregramme qui sont Rapprochés qualitativement et quantitativement chez les patients comparés aux témoins. Les niveaux circulants de protéines sériques sont légèrement inférieurs chez les patients infectés par sars-cov-2 comparés aux témoins sains non infectés. Mais les différences ne sont pas significatives (p=0.715 ; p>0.05).

Conclusions : Notre étude conclue la présence de mélange de protéines qualitativement et quantitativement comparables chez les patients atteints d'infection à SARS-Cov-2 (Test sérlogique positif, IgM +) comparés aux témoins sains ; résultats révélés par électrophorèse de zone. De plus les taux circulants de protéines totales sérique sont légèrement différents chez les deux groupes étudiés. Nonobstant, les différences ne présentent pas de signification statistiquement en appliquant le test T de Student (p value < 0.05).

Mots-clés : Sars-Cov-2, COVID-19, Système du complément, Complément C3, β2-globulin,Protéines totals

ABSTRACT

Introduction

Objectives

Materials and methods

Results

Conclusion

Keywords

Abstract

Introduction:

COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) is a viral respiratory infection that emerged in 2019 in Wuhan, China. The virus responsible for this is SARS-CoV-2, which belongs to the Coronaviridae family. SARS-CoV-2 is able to activate the innate immune response as well as the adaptive one. The complement system is a set of plasma and membrane proteins involved in innate immunity. It involves protein C3 which is the central component of the three activation pathways of this system; whose roles are diverse: Formation of the membrane attack complex (MAC) responsible for the lysis of pathogens, recruitment of phagocytes, opsonization and increased phagocytosis with amplification of the inflammatory response, destruction of infectious agents, elimination of immune complexes, and control of the specific immune response. The complement molecule C3 is an essential component of the host's immune response against viral infections. C3 is part of the β2-globulin fraction (6 to 13 g/L) defined on the electropherogram. Nevertheless, the activation of complement and the uncontrolled increase in inflammation via the amplification of danger signals against antigens has direct cytotoxic effects; such recently reported evidence for complement deposition in SARS-CoV-2 damaged lung microcirculation, further supporting the idea that in severe cases of COVID-19 complement activation is a primary player , generating destructive hemorrhagic tissue damage such as capillaritis, clots, and hyper inflammation, which is partly the cause of the pathological aggravation.Therefore, the investigation of the C3 molecule of complement represents an element of wide scientific relevance in the case of covid-19 infection.

Objectives: The purpose of this study is to qualitatively and quantitatively assess serum levels of the C3 molecule in subjects with covid-19 infection at compared to uninfected healthy subjects.

Aim: To assess the circulating levels of the complement molecule C3, in subjects with COVID- 19 compared to healthy subjects, during the first week of infection. Moreover, to determinate tota protein concentrations in serum.

Materials and methods: A population of 20 patients (6 men and 14 women) with an average age of (47.9 years), suffering from SARS-CoV-2 or COVID-19 (serologic test, positive IgM) and 20 matched healthy controls (6 men and 16 women) of average age (47.8 years) were selected for this study. These patients are chosen from a sample of patients recruited from the biomedical analysis laboratories of hospitals and private hospitals in the cities of Médéa and Blida (Franz Fanon Hospital), Algeria.

Results: Electrophoretic fractionation by zone electrophoresis showed the presence of a mixture of proteins on the electropherogram that are qualitatively and quantitatively close in patients compared to controls. Circulating serum protein levels are slightly lower in patients infected with sars-cov-2 compared to uninfected healthy controls. But the differences are not significant (p=0.715; p>0.05).

Conclusions: Our study concludes the presence of a mixture of qualitatively and quantitatively comparable proteins in patients with SARS-Cov-2 infection (positive serological test, IgM +) compared to healthy controls; results revealed by zone electrophoresis. Moreover, the circulating levels of total serum proteins are slightly different in the two groups studied. Notwithstanding, the differences do not show statistical significance by applying the Student's T test (p value < 0.05).

Keywords: Sars-Cov-2, COVID-19, Complement system, Complement C3, β2-globulin, Total protein.

ملخص

مقدمة : مرض فيروس كورونا 2019 هو عدوى فيروسيى تنفسية ظهرت في عام 2019 في ووهان ،في الضين .الفيروس المسؤول عن ذلك هوSARS-CoV-2 ،الذي ينتمي ال عائلة-SARS CoV-2 . Coronavidae قادر على تنشيط الااستجابة المناعية الفطرية وكذلك الاستجابة التكيفية.النظام التكميلي عبارة عن مجموعة من بروتينات البلازما والغشاء تشرك في المناعة الفطرية .يتضمن البروتينو C3 وهو المكون المركزي لمسارات التنشيط الثلاثة لهذا النظام ،تتنوع ادوارها في: تكوين مجمع الهجوم الغشائي(MAC) المسؤول عن تحلل مسببات الامراض،وتجنيد الخلايا البلعمية ،والقضاء على المجمعات المناعية ،والتحكم في الاستجابة المناعية المحددة .وبالتالي ،يعد C3مكونا اساسيا للاستجابة المناعيى للمضيف ضد الالتهابات الفيروسية . ومع ذلك ،فان تنشيط المكمل وزيادة الالتهاب الغير المنضبط عن طريق تضخيم اشارات الخطر ضد المستضدات له تاثيرات سامة للخلايا مباشرة ،مثل هذه الادلة التي تم الابلاغ عنها مؤخرا على ترسب المكمل في SARS-CoV-2 التالفة في دوران الوعية الدقيقة في الرئة ،مما يدعم ايضا فكرة انه في الحالات الشديدة من COVID-19 يكون تنشيط المكمل لاعبا أساسيا،مما يؤدي ال تلف الانسجة النزفية المدمرة مثل التهاب الشعيرات الدموية والجلطات والالتهاب المفرط،وهو سبب جزئي للتفاقم المرضي.

لذلك ، يمثل التحقيق في الجزيء التكميلي C3 عنصرًا ذا صلة علمية واسعة في حالة الإصابة بفيروس covid-19.

الكلمات المفتاحية:.Sars-Cov-2, COVID-19, Système du complément, Complément C3, β2- globulin Protéines totals