

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Abou BekrBelkaïd -Tlemcen-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie



Mémoire de fin d'étude
en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie cellulaire et moléculaire

Thème :

Approche vaccinale dirigée contre la
protéine S du SARS-CoV-2 : État des
lieux des connaissances actuelles

Présenté par :

- ***Bouizem Fatima Zohra .***

Soutenue devant le jury

M ^{me} Dali Sahi M	Pr	Encadrant	Université de Tlemcen
M ^{me} Medjati .N.	Pr	Examinatrice 01	Université de Tlemcen
M ^{me} Guermouche .B	MCA	Examinatrice 02	Université de Tlemcen

Année universitaire

2020 - 2021

Liste des tableaux

Tableau 1 : Aperçu de la mise au point des vaccins humains(Plotkin, 2014).....	03
Tableau 2 : Classification et composition des différents vaccins disponibles(Canoui et Launay, 2018).....	05
Tableau 3 :Comparaison des caractéristiques bénéfiques et néfastes des vaccins à ADN et ARN(István Tomba'cz et al.,2021).....	16
Tableau 4 : Protéines critiques du SARS-CoV-2 et leur rôle mécaniste (Poduri et <i>al.</i> , 2020 ; Thakur et <i>al.</i> , 2020).....	21

Liste des figures

- Figure 01:** Structure générale d'un coronavirus. (Schéma d'un virion) (V'kovski et *al.*, 2020).....20
- Figure 02 :**(A) Schéma de la structure primaire de la protéine de pointe du SRAS-CoV(B) Structure Cryo-EM de la protéine de pointe SARS-CoV-2(Mei-Yue et *al.*, 2020).....26
- Figure 03 :** Les différents types de vaccins actuellement en cours de développement pour le SRAS-CoV-2(Chung et *al.*, 2020).....32

Liste des abréviations :

- ACE2** : Angiotensine enzyme 2.
- ADE** : Amplification dépendante des anticorps.
- ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- APC** : cellule présentatrice d'antigène.
- APN** :Aminopeptidase N humaine.
- ARNm** :Acide ribonucléique messenger.
- ARNm sg** : Acide ribonucléique messagersous-génomiques.
- ATP** : Adénosine triphosphate.
- BCG** : Bacille Calmette et Guérin.
- CD** :Les cellules dendritiques.
- Cd** : Domaine de connecteur.
- CH** : Hélice centrale.
- CMH** : Complexe majeur d'histocompatibilité.
- COVID-19** :Coronavirus disease 2019.
- CT** : Queue cytoplasmique.
- DPP4** :Dipeptidyl peptidase 4.
- ECMO** : ventilation mécanique.
- FDA** :Food and Drug Administration.
- FP** : Peptide de fusion.
- G-CSF** : Facteur de stimulation des colonies de granulocytes.
- HCQ** :Hydroxychloroquine.
- Hep C** : Hépatite C.
- HR1** : Heptadrepeat 1.
- HR2** : Répétition heptade 2.
- IFN** : Interféron antiviral.
- MERS-CoV** : Middle East respiratory syndrome *coronavirus*.
- MIP1 α** : protéine inflammatoire des macrophages 1 α .
- NIH** : National Institute of Health.
- Nsp** : Protéines non structurales.
- NTD** : Domaine N-terminal.
- ORF** : *Open reading frame* (cadre de lecture ouvert).
- PD-1** : Mort programmée-1.
- PEG** : Polyéthylène glycol.

PLpro : Protéase de type papaine.

RDB :Receptorbindingdomain (domaine de liaison au récepteur).

RDV-TP :Remdesivir triphosphate.

RNase :Ribonucléase.

RTC : Complexe de réplication et de transcription virale.

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

SDRA : Syndrome de détresse respiratoire aiguë.

sHLH :Lymphohistiocytosehémophagocytaire secondaire.

SRAS-CoV-2 : Syndrome respiratoire aigu sévère.

Th1 : Lymphocyte T auxiliaire.

TIM-3 : l'immunoglobuline mucine-3 des lymphocytes T.

TM :Domaine transmembranaire.

TNF : Facteur de nécrose tumorale.

Toll-9 : Tolllike receptor-9, TLR-9.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

VRS :virus respiratoire syncytial.

3CLpro : Protéase de type 3-chymotrypsine.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience et le courage d'accomplir ce modeste travail.

C'est avec une immense reconnaissance que je remercie mon encadreur Mme «SAHI-DALI YOUCEF Majda» pour la qualité de son enseignement, ses judicieux conseils, sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce travail, ainsi pour l'orientation, la confiance, l'aide et surtout son exigence et le temps qu'elle a bien voulu me consacrer.

Je lui présente donc mes sentiments de gratitude.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ma recherche en acceptant d'examiner mon travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Mes sincères remerciements à tous mes professeurs du département de biologie à la faculté des sciences de la Nature et de la Vie, des sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou-Bakr BELKAID Tlemcen.

Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes parents, que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A mon mari qui m'a soutenue tout au long de ce projet, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler.

A mon enfant qui ne m' pas rendu la tâche vraiment facile.

*Bien sûr a mes sœurs, sans oublié ma défunte grand-mère et mes beaux-parents.
A toute ma famille, et mes amis.*

Table des matières

Chapitre 01	1
I. La vaccination	2
□ Histoire et définition du vaccin	2
□ Immunologie vaccinale	5
□ La nouvelle approche vaccinale	7
Chapitre 02	17
II. Vaccination et SARS-CoV-2	18
□ Généralité sur les coronavirus	18
□ Les protéines critiques du SARS-CoV-2	20
□ Réorganisation de l'allèle qui code pour la protéine spike	23
□ Changements génomiques récents dans le SRAS-CoV-2	23
□ Les différents récepteurs cellulaires du SARS-CoV-2	25
□ Réponses immunitaires de l'hôte pendant l'infection par le SRAS-CoV-2 et par la vaccination	27
□ L'immunité innée	27
□ Vaccins contre le SARS-CoV-2	32
Chapitre 03	41
III. Médicaments et Sars-CoV-2	42
Conclusion et perspectives	48
Données bibliographiques	50

Résumé

Comme nous sommes dans l'incapacité d'évaluer l'efficacité des vaccins contre la COVID-19, on se réfère aux orientations provisoires. Il ressort de notre travail de synthèse les points suivants. Parmi les vaccins homologués on a pu faire ressortir que les vaccins à base d'ARNm tel que Moderna , et Pfizer/BioNtech possèdent une efficacité respectives de 94% et 95%. Suivit à l'heure actuelle par le vaccin sputnikV qui est un vaccin dit vectoriel avec une efficacité de 91%. Ainsi qu'Astra Zeneca/Oxford, lui aussi vaccin vectoriel ; mais avec une efficacité moindre (62%). Suivi sur le marché par les vaccins Sinovac et Sinopharme vaccins à base de virus inactivés et qui ont une efficacité de seulement (51%). Ces vaccins homologués semblent être efficaces, mais de nombreuses questions restent toujours sans réponse. La question de savoir si ces vaccins candidats peuvent offrir une protection durable ? Si cette technologie nouvelle peut avoir un impact sur le patrimoine génétique de la personne vaccinée ? Comment a-t-on pu amplifier autant de virus vecteur en si peu de temps ? Quelle est l'innocuité des adjuvants ? Et beaucoup d'autres questions auxquelles doivent répondre les spécialistes de l'ingénierie génétique. Il ne faut toutefois pas abandonner la piste thérapeutique. Cela nous conduit à la quête de nouvelles molécules antivirales et, surtout, de nouvelles cibles thérapeutiques pour lutter contre le Covid19.

Abstract

As we are unable to assess the effectiveness of COVID-19 vaccines, reference is made to the provisional guidance. The following points emerge from our summary work. Among the approved vaccines, it has been shown that mRNA-based vaccines such as Moderna, and Pfizer / BioNtech have an efficacy of 94% and 95%, respectively. Currently followed by the sputnikV vaccine which is a so-called vector vaccine with an efficiency of 91%. As well as Astra Zeneca / Oxford, also a vector vaccine; but with lower efficiency (62%). Followed on the market by the vaccines Sinovac and Sinopharme vaccines based on inactivated viruses and which have an efficacy of only (51%). These licensed vaccines appear to be effective, but many questions remain unanswered. The question whether these candidate vaccines can offer lasting protection? If this new technology can have an impact on the genetic heritage of the vaccinated person? How could we amplify so many vector virus in such a short time? How safe are adjuvants? And many more questions that genetic engineers must answer. However, we must not abandon the therapeutic path, which leads us to the search for new antiviral molecules and, above all, new therapeutic targets to fight against Covid19.

ملخص

. نظرًا لأننا غير قادرين على تقييم فعالية لقاحات COVID-19، فقد تمت الإشارة إلى الإرشادات المؤقتة. النقاط التالية تظهر من ملخص عملنا. من بين اللقاحات المعتمدة، ثبت أن اللقاحات القائمة على mRNA مثل Moderna و Pfizer / BioNtech لها فعالية بنسبة 94 % و 95 % على التوالي. حاليًا يتبعه لقاح sputnikV وهو ما يسمى بلقاح الناقل بكفاءة 91%. بالإضافة إلى Astra Zeneca / Oxford ، لقاح ناقل أيضًا ؛ ولكن بكفاءة أقل (62%). يتبع في السوق لقاحات Sinovac و Sinopharme القائمة على الفيروسات المعطلة والتي لها فعالية بنسبة (51%) فقط. يبدو أن هذه اللقاحات المرخصة فعالة ، لكن تظل العديد من الأسئلة دون إجابة. السؤال عما إذا كانت هذه اللقاحات المرشحة يمكن أن توفر حماية دائمة؟ إذا كانت هذه التكنولوجيا الجديدة يمكن أن يكون لها تأثير على التراث الجيني للشخص الملقح؟ كيف يمكننا تضخيم الكثير من فيروسات النواقل في مثل هذا الوقت القصير؟ ما مدى أمان المواد المساعدة؟ والعديد من الأسئلة التي يجب أن يجيب عليها مهندسو الجينات. ومع ذلك ، يجب ألا نتخلى عن المسار العلاجي ، الذي يقودنا إلى البحث عن جزيئات جديدة مضادة للفيروسات ، وقبل كل شيء ، أهداف علاجية جديدة لمحاربة كوفيد 19.

Chapitre 01

I. La vaccination

- **Histoire et définition du vaccin**

L'une des découvertes les plus importantes de la médecine à nos jours est bien la vaccination. Il est prouvé qu'en dehors de l'eau potable, rien n'a eu un effet aussi important sur la diminution de la mortalité et sur la croissance démographique (Canoui et Launay, 2018).

Nos ancêtres avaient déjà remarqué que certaines maladies graves, interprétées comme intoxication, ne pouvaient se contracter deux fois. L'explication donnée à ce phénomène était soit par l'accoutumance à un poison venant de l'extérieur, soit par épuisement d'une matière interne à l'organisme, innée et potentiellement nuisible (Guérin, 2007).

Parmi leurs essais ils auraient ingéré des substances toxiques à petites doses en même temps que leurs antidotes afin de rendre le poison inoffensif par l'habitude (Guérin, 2007).

Plus de 300 ans se sont écoulés depuis l'apparition du premier vaccin, la plupart des vaccins actuellement disponibles ont été mis au point de manière empirique, avec une compréhension limitée de la façon dont ils activent le système immunitaire et suscitent une immunité protectrice (Zepp, 2016).

Edward Jenner a illustré en 1796 cette inoculation de peau humaine avec le virus de la variole de la vache qui était protecteur contre une infection ultérieure de la variole. Ce phénomène a donné naissance au terme «vaccin», qui découle de la racine latine «vacca» signifiant vache. Un vaccin est défini comme une préparation biologique utilisée pour établir ou améliorer l'immunité à une maladie particulière. La vaccination est considérée comme l'une des plus grandes réalisations de santé publique du 20^e siècle en diminuant considérablement la morbidité et la mortalité mondiales causées par un certain nombre d'infections, y compris la variole, la polio, la rougeole et l'hépatite B entre autres (Bartlett *et al.*, 2009).

Voici un aperçu du développement du vaccin chez les humains :

Tableau 1 : Aperçu de la mise au point des vaccins humains (Plotkin,2014).

Vaccin vivant atténué	Organismes entiers tués	Protéines ou polysaccharides purifiés	Génétiquement modifié
18ème siècle • Variole (1798)			
19ème siècle • Rage (1885)	• Typhoïde (1896) • Choléra (1896) • Peste (1897)		
Début du XXe siècle, première moitié : • Tuberculose (1927) • Fièvre jaune (1935)	• Coqueluche (1926) • Grippe (1936) • Rickettsia (1938)	• Anatoxine diphtérique (1923) • Anatoxine tétanique (1926)	
20e siècle, seconde moitié : • Polio (oral) (1963) • Rougeole (1963) • Oreillons (1967) • Rubéole (1969) • Adénovirus (1980) • Typhoïde (Salmonella TY21a) (1989) • Varicelle (1995) • Choléra (atténué) (1994) • Grippe adaptée au froid (1999)	• Polio (injecté) (1955) • Rage (culture cellulaire) (1980) • Encéphalite japonaise (cerveau de souris) (1992) • Encéphalite à tiques (1981) • Hépatite A (1996) • Choléra (WC-rBS) (1991) • Méningococcique conjugué (groupe C) (1999)	• Protéines sécrétées par l'anthrax (1970) • Meningococcus polysaccharide (1974) LymeOspA (1998) • Pneumococcus polysaccharide (1977) • Polysaccharide d'Haemophilus influenzae de type B (1985) • H.influenzae conjugué de type b (1987) • Polysaccharide typhoïde (Vi) (1994) • Coqueluche acellulaire (1996) • Hépatite B (dérivée du plasma) (1981)	• Antigène de surface de l'hépatite B recombinant (1986) • LymeOspA (1998) • Choléra (toxine B recombinante) (1993)
21e siècle : • Rotavirus (atténués et nouveaux réassortants) (2006) • Zoster (2006)	• encéphalite japonaise (2009) (cellule Vero) • Choléra (WC uniquement) (2009)	• antipneumococciques conjugués * (heptavalent) (2000) • méningocoque Conjugués * (quadrivalent) (2005) • antipneumococciques conjugués *(13-valent) (2010)	

* Polysaccharide capsulaire conjugué à des protéines porteuses.

La vaccination en soit consiste à introduire un agent infectieux au sein de l'organisme d'un patient sain et ça permet de stimuler son système immunitaire(**Faure,2013**).

Une protection individuelle, basée sur la capacité du système immunitaire à reconnaître, mémoriser et optimiser la réponse immune, spécifique à un antigène lors d'une seconde rencontre avec ce dernier, permet, lorsqu'une proportion suffisamment importante de la population est vaccinée, une protection collective qui fait le succès de la vaccination et qu'il est important de promouvoir(**Plotkin, 2014**).

Il existe deux grands types de vaccins : les vaccins vivants atténués et les vaccins inactivés.

Les vaccins vivants atténués Ils contiennent l'agent infectieux vivant dont le pouvoir pathogène est affaibli par différents procédés afin qu'ils perdent leur pouvoir infectieux. Ils induisent ainsi une forme atténuée, voire asymptomatique de la maladie, en stimulant tout le registre de la réponse immunitaire. La principale propriété est une très grande immunogénicité (protection immunitaire proche de celle succédant à l'infection naturelle), rapidement obtenue (dans les 10 à 14 jours) mais exposant au risque de maladie vaccinale, notamment chez l'immunodéprimé (risque réel) et la femme enceinte (risque théorique)(**Autran et al., 2016**).

Les vaccins inactivés Ces vaccins dépourvus de tout pouvoir infectieux regroupent les vaccins à agent infectieux entiers (bactéries ou virus) et les vaccins sous-unitaires (**Tableau 2**).. Ils peuvent contenir :

- soit un fragment de l'agent infectieux (sa paroi ou sa toxine), c'est le cas par exemple des vaccins contre l'hépatite B ou le tétanos
- soit la totalité de l'agent infectieux qui est inactivé (vaccin contre la coqueluche)

L'inactivation du virus est faite avec la chaleur ou par des agents chimiques comme le formaldéhyde qui permet de supprimer le pouvoir pathogène du virus. Le vaccin subit d'avantage de purification de sorte que seulement les sous-unités d'intérêt demeurent mais tout en gardant les propriétés immunologiques, c'est-à-dire la capacité à déclencher une réponse immunitaire vis-à-vis de l'antigène fabriqué sans pour autant déclencher la maladie.

Ils sont capables d'induire une réponse immunitaire protectrice mais nécessitent, du fait de leur composition propre, des administrations répétées, le plus souvent l'utilisation d'adjuvants de l'immunité et des injections de rappel tout au long de la vie (**Canouï et Launay, 2018**).

Tableau 2 : Classification et composition des différents vaccins disponibles (Canouï et Launay, 2018).

Type de vaccin	Avantages/inconvénients	Agent pathogène ciblé
Vaccins vivants atténués réplicatifs	Très bonne immunogénicité une à deux injections risque de maladie vaccinale contre-indiqués chez l'immunodéprimé et la femme enceinte	Dérivé de pathogène voisin : tuberculose (BCG), variole (vaccine) b dérivé de pathogène humain : fièvre jaune, poliomyélite 1, rougeole, oreillons, rubéole, varicelle, zona, grippe (nasale), Rotavirus réassortiment souche humaine/souche bovine, denguea vecteurs viraux recombinant : encéphalite japonaisea
Vaccins inertes	Absence de risque infectieux pas de contre-indication chez l'immunodéprimé Immunogénicité moindre (sauf pour les vaccins inactivés à germe entier). Nécessité de plusieurs injections	Vaccin à agent infectieux entiers inactivés : hépatite A, poliomyélite, grippe (fractionné), rage, encéphalite à tique, encéphalite japonaise, leptospirose, choléra Vaccins sous-unitaires : Anatoxines : tétanos, diphtérie Vaccin protéique : coqueluche acellulaire, méningocoque B, hépatite B, papillomavirus Polyosidiques non conjugués : pneumocoque (23 valences), typhoïde, méningocoque AC et ACYW135 Polyosidiques conjugués : pneumocoque (13 valences), méningocoque C et ACYW135, Haemophilus influenzae type b

- **Immunologie vaccinale**

La prévention des maladies par la vaccination est la meilleure façon de surveiller et gérer la propagation des maladies. Il est vrai que les vaccins ne préviennent pas toujours la transmission de la maladie, mais ils peuvent tout de même modifier la gravité de la maladie chez ceux qui sont infectés ou réduire la transmission aux personnes sensibles. En ordre pour comprendre comment les vaccinations accomplissent un tel exploit, il est important de savoir comment les vaccins provoquent une réponse immunitaire (Bartlett et al., 2009).

La vaccination vise le système immunitaire humoral, partie du système immunitaire adaptatif ou acquis. Le système immunitaire adaptatif, composé de systèmes immunitaires humoraux et à médiation

cellulaire, a une spécificité et une mémoire élevées. Le système immunitaire humoral fait référence aux réponses immunitaires qui impliquent des anticorps produits par les cellules B.

Tant dis que, l'immunité à médiation cellulaire fait référence aux réponses des lymphocytes T en l'absence d'anticorps. L'immunité humorale peut être transférée à une autre personne en utilisant un sérum contenant des anticorps.

Une réponse immunitaire adaptative intervient lorsque l'agent pathogène échappe au système immunitaire inné par laquelle des organismes sont détectés et détruit rapidement par des mécanismes de défense non spécifique de l'antigène et ne nécessite pas d'induction. Une réponse immunitaire adaptative réussie dépend de l'interaction de trois types de cellules clés: la cellule présentatrice d'antigène (APC), dérivée du thymus lymphocytes (lymphocytes T) et dérivés de la moelle osseuse lymphocyte (cellule B). Parmi les différentes cellules présentant l'antigène, la cellule dendritique (connue sous le nom de cellule de Langerhans dans la peau) est la plus importante car ils sont spécialisés pour la capture d'antigènes, le traitement ultérieur et la présentation à la surface cellulaire pour la reconnaissance des récepteurs des lymphocytes T et B.

Les récepteurs cellulaires peuvent cependant reconnaître directement des antigènes étrangers (**figure 1**).

La reconnaissance des antigènes étrangers par les récepteurs d'immunoglobulines (Ig) sur les cellules B conduit à la production de cellules plasmocytaires (**Delves et Roitt, 2000**).

Ensuite, les plasmocytes sécrètent des sous-classes d'anticorps (IgA, IgE, IgG et IgM). Ces anticorps ont pour rôle de prévenir ou de limiter l'infection initiale et sont impliqués dans la destruction des cellules infectées par cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps.

La nature du système immunitaire permet une rapide augmentation de la réponse après une réexposition à un antigène. Cette fonctionnalité joue un rôle essentiel dans le fonctionnement du système immunitaire et est l'un des principes de la vaccination, c'est la mémoire immunologique ou anamnésique (**Casadevall et al., 2003**).

Après une infection, la majorité des cellules effectrices meurent dans les 10 à 14 jours. Cependant, quelques-unes persistent sous forme de cellules plasmiques hautement réactives (cellules B) ou de cellules mémoire (cellules B et T) pour lutter contre les infections ultérieures. Les cellules B mémoire ont subi une commutation d'isotype et hypermutation somatique, un processus qui commence tard dans la réponse immunitaire primaire (**Gray et al., 1994**). La production de cellules mémoire B est lancée avant l'élimination de l'antigène. Sans antigène présent, les cellules B mémoire se divisent lentement et ne

produisent pas anticorps. Lorsqu'un antigène autrefois reconnu (soit d'un agent pathogène, soit d'un rappel antigénique vaccin) est retrouvée, les cellules mémoire se divisent plus rapidement et se différencient pour former des plasmocytes anticorps sécréteurs. L'affinité des anticorps est augmentée pendant les réponses secondaires et subséquentes en cours (Ahmed e Gray. 1996).

L'induction de la mémoire des cellules, ainsi que des anticorps de longue durée dirigés contre un agent pathogène spécifique, est le but ultime de la prévention vaccination (Bartlett *et al.*, 2009).

- **La nouvelle approche vaccinale**

Les dernières décennies ont vu le développement d'un large éventail de nouvelles technologies de vaccination allant des techniques d'atténuation ciblées d'agents pathogènes vivants à la délivrance d'antigènes protéiques et peptidiques biologiquement modifiés ainsi que d'antigènes à base de vecteurs viraux et d'acides nucléiques. Bon nombre de ces technologies ont donné des résultats très prometteurs (Rauchet *al.*, 2018).

- ❖ **Vaccin à ADN**

L'immunisation avec des acides nucléiques a reçu une attention considérable dans le domaine des nouvelles générations de vaccins. La première preuve de concept d'un vaccin à ADN a été réalisée en 1990 et impliquait l'injection de molécules d'ADN, exprimant le chloramphénicol l'acétyltransférase, la luciférase et la bêta-galactosidase dans le muscle squelettique de la souris, et l'expression de gènes rapporteurs *in vivo*, qui peuvent être détectés jusqu'à deux mois après infection (Silveira, 2020).

En bref, le vaccin à ADN consiste à délivrer un allèle codant pour un antigène d'intérêt vaccinal est inséré dans un plasmide bactérien, sous le contrôle d'un promoteur approprié (en général, le promoteur c'est du cytomégalovirus). Le plasmide est ensuite produit dans des bactéries, purifié et injecté par voie intramusculaire ou intradermique, ou par des procédés permettant d'optimiser la capture de cet ADN par les cellules, comme la technique de *gene-gun* ou l'électroporation. Chez la souris, ou en vaccination vétérinaire, ce procédé de vaccination permet notamment d'induire des réponses cellulaires, qui se caractérisent par de fortes réponses T cytotoxiques et T CD4⁺ à dominante Th1. La capacité des vaccins ADN à stimuler de telles réponses est, en partie, liée au fait que les plasmides bactériens contiennent des séquences CpG non méthylées, capables, après leur interaction avec le récepteur de type Toll-9 (*Tolllike receptor-9*, TLR-9), de stimuler la production de cytokines pro-inflammatoires. De multiples développements ont été faits autour de la technologie de base, notamment pour augmenter la capture de l'ADN plasmidique par les cellules présentatrices d'antigènes ou pour stimuler l'immunité innée, par l'administration simultanée de divers adjuvants ou d'allèle codant pour des cytokines (Leclerc, 2007).

Cette approche induit efficacement des réponses immunitaires humorales et à médiation cellulaire. La formulation du vaccin est faite de telle sorte que l'ADN soit transloqué au niveau du noyau cellulaire de l'hôte. Une fois que cet ADN d'intérêt, flanqué d'un promoteur eucaryotique présent dans la structure du vecteur est activé, déclenchant la transcription de l'ADN d'intérêt à travers la machinerie cellulaire de l'hôte.

Les cellules présentatrices d'antigène (APC) sont les principales cellules cibles pour recevoir l'ADN recombinant contenant l'allèle d'intérêt. De même, les myocytes ont été signalés à jouer un rôle crucial dans ce phénomène de transformation. Après la traduction la protéine est ensuite transformée en peptides qui se lient à complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I ou II. Les cellules autres qu'APC, telles que les myocytes, utilisent le CMH-I pour la présentation de l'antigène, et l'APC, comme les cellules dendritiques (CD), peuvent utiliser le CMH-II, ce qui entraîne un amorçage croisé et une présentation des antigènes aux deux Cellules T CD4+ et CD8+.

Concernant la régulation immunitaire du COVID-19, les éléments intrinsèques de l'ADN plasmidique, tels que les séquences non méthylées CpG, peuvent activer les réponses immunitaires innées, améliorant ainsi les réponses immunitaires adaptatives contre les antigènes exprimés. Bien que les essais cliniques utilisant des vaccins à ADN chez l'homme induit à la fois des réponses cellulaires et humorales, ces réponses ne sont souvent pas suffisantes pour obtenir des avantages cliniques significatifs.

Par conséquent, les vaccins à ADN n'ont été autorisés que pour utilisation en médecine vétérinaire. En raison de cette limitation, plusieurs axes de recherche se concentrent sur l'optimisation et la livraison du vaccin à ADN, y compris la conception du promoteur, le codon optimisation, adjuvants, utilisation de l'électroporation, immunisation d'amorçage/stimulation ou « omiques » approches pour la conception de vaccins affinés (Silveira,2020).

Par rapport aux vaccins vivants ou atténués traditionnels, les vaccins à ADN ont plusieurs avantages, tels que l'induction de réponses immunitaires larges sans risque d'être associé à la réplication de micro-organismes ; la stimulation à la fois cellulaire et humorale de l'immunité; construction d'un vecteur codant pour différents antigènes dans un même vaccin ; production efficace à grande échelle et à faible coût; et une stabilité élevée au stockage. Dans le domaine de la vaccinologie, le stockage est un facteur crucial, car la préservation de la haute qualité du contenu du vaccin et, par conséquent, le potentiel protecteur est nécessaire. Par conséquent, l'entreposage au froid est indispensable pour assurer la survie des vaccins vivants et préserver leur contenu. De l'autre part, les vaccins à ADN sont très stables et

nécessitent moins de réfrigération, ce qui peut être très pratique pour une utilisation dans les zones endémiques (Silveira, 2020).

❖ Vaccins à ARNm :

Jusqu'au début des années 2000, la grande majorité des efforts a été investie dans le développement de vaccins à ADN en raison des problèmes potentiels d'instabilité et de faible translatabilité in vivo de l'ARN messenger (ARNm). Ces dernières années, de nombreuses études ont démontré les capacités exceptionnelles de l'ARNm à déclencher de puissantes réponses immunitaires contre les agents pathogènes infectieux et les différents types de cancer, ce qui en fait une plate-forme viable pour le développement de vaccins. De multiples plates-formes de vaccins à ARNm ont été développées et évaluées chez les petits et les grands animaux et les humains et les résultats semblent prometteurs. Les vaccins à base d'ARN présentent des avantages importants par rapport aux autres approches vaccinales, y compris une efficacité et une sécurité exceptionnelles et le potentiel de production rapide, peu coûteuse et évolutive. Les nouvelles sociétés d'ARNm investissent substantiellement dans le développement de thérapies à l'ARNm, en particulier les vaccins, augmentant le nombre de publications de recherche fondamentale et translationnelle et d'essais cliniques humains en cours (István Tomba'cz et al., 2021).

Les limites des vecteurs à ADN ont permis aux vaccins à base d'ARN de prendre de l'ampleur ces dernières années, comme les vaccins à base d'ADN, ils sont peu coûteux et peuvent être fabriqués rapidement à grande échelle. Cependant, leur application a été précédemment limitée par l'instabilité d'ARN et une délivrance in vivo inefficace. Plusieurs méthodes de modification structurelle ont été employées pour augmenter la stabilité intracellulaire des molécules d'ARN (Wallis et al., 2019).

Connaissant la structure primaire de l'antigène vaccinal, autrement dit la composition précise en acides aminés de la protéine contre laquelle on veut vacciner, on en déduit la séquence ADN qui lui correspond. C'est à partir de cet ADN que l'on produit l'ARN in vitro, en dehors de toute cellule. Les réactions biochimiques ont donc lieu dans un système acellulaire, ce qui facilite leur production et exclut tout risque de contamination par un éventuel agent infectieux intracellulaire (bactérie, virus). La formation de la molécule d'ARN résulte donc d'une réaction in vitro. Celle-ci a pour point de départ une molécule d'ADN circulaire, appelée ADN plasmidique, que l'on linéarise. Le brin d'ARN synthétique que l'on cherche à fabriquer sera la copie complémentaire de cet ADN plasmidique devenu linéaire. La réaction nécessite la présence d'une enzyme et de nucléotides (lettres de l'alphabet génétique, composants essentiels de toute molécule d'ARN). L'enzyme ARN polymérase copie alors l'ADN en utilisant les nucléotides. L'ARN messenger synthétique produit est donc le résultat d'une transcription in vitro à partir

d'un ADN circulaire. Une coiffe peut être ajoutée par voie enzymatique une fois la réaction terminée. Il est également possible qu'un analogue de coiffe synthétique soit synthétisé au cours même de la procédure. Enfin, une séquence terminale est ajoutée afin de construire un ARN messager complet (Sahin,2014).

Les vaccins à ARN qui sont un développement nouveau; comme pour les vaccins à ADN, l'information génétique de l'antigène est délivrée à la place de l'antigène lui-même, et l'antigène est ensuite exprimé dans les cellules de l'individu vacciné. Un ARNm (avec modifications) ou un ARN auto-répliquatif peut être utilisé (Krammer, 2020).

Contrairement à l'ADN, l'ARN ne nécessite pas d'entrer dans le noyau, la principale barrière à laquelle les vaccins à ARN font face est surtout l'entrée cellulaire. Cela peut être adressé par une formulation avec des molécules de support poly-cationiques qui peuvent condenser et protéger l'ARN et aider son absorption cellulaire rapide (Alameh et al.,2020).

Le développement de cette nouvelle génération de vaccins nécessite évidemment d'avoir recours à des technologies visant à amener la molécule d'ARN à bon port, à savoir dans le cytoplasme de la cellule. La première difficulté est donc de faire en sorte que l'ARN messager pénètre dans les cellules du tissu (peau, muscle) dans lequel on l'injecte. Il faut donc que la molécule d'ARN franchisse la membrane cellulaire afin de se retrouver dans le cytoplasme. C'est en effet dans ce compartiment de la cellule qu'elle sera traduite en protéine et servira d'antigène vaccinal.

Or la membrane de la cellule, constituée d'une double couche de lipides chargés négativement, constitue un obstacle physique majeur à l'entrée d'une molécule dans le milieu intracellulaire. De plus, plusieurs pompes et canaux ioniques créent un potentiel négatif (-40 à -80 mV) de part et d'autre de la membrane et maintiennent une charge électrique négative dans le cytoplasme. Ce potentiel négatif crée une barrière au passage des molécules d'ARN elles-mêmes chargées négativement.

Par ailleurs, l'ARN est constamment menacé d'être dégradé par des enzymes, des ribonucléases extracellulaires, abondamment présentes dans la peau et dans le sang. Cela impose donc de protéger l'ARN messager, menacé d'être détruit par ces enzymes ubiquitaires, tout en facilitant sa pénétration dans la cellule (Alameh et al.,2020).

Un moyen efficace pour protéger l'ARN consiste à l'encapsuler dans de très petites particules, en l'occurrence des nanoparticules lipidiques. Celles-ci sont typiquement composées de quatre éléments différents. Tout d'abord de lipides capables de s'auto-agencer en particules sphériques (de 70–100

nanomètres) pour encapsuler l'ARN messager, soit ionisables (capables d'acquérir des charges positives en fonction du pH) ou cationiques (chargés positivement). Ensuite de phospholipides ressemblant à ceux de la membrane cellulaire. Mais aussi de cholestérol qui stabilise la double couche lipidique de la nanoparticule lipidique. Enfin d'un lipide-PEG (polyéthylène glycol) qui apporte une couche hydratée aux nanoparticules et permet à ces formulations de gagner en stabilité.

Une fois dans le cytoplasme, les nanoparticules lipidiques sont acheminées vers des endosomes et lysosomes, de petites structures sphériques en forme de vésicules dans lesquelles une partie de l'ARN messager est dégradée. Une partie parvient cependant à s'en échapper et évite la dégradation par des mécanismes complexes non encore parfaitement élucidés. Les matériaux utilisés pour délivrer la molécule d'ARN messager portant le code de fabrication de l'antigène vaccinal dans la cellule ont fait l'objet d'intenses recherches ces dernières années. Elles ont enfin vu l'avènement de technologies très efficaces permettant de grandement améliorer la délivrance de l'ARN messager (**Alameh et al.,2020**).

À côté des lipides ionisables, des travaux ont été menés sur des matériaux polymères biodégradables ramifiés, composés d'acides gras branchés ou hyperbranchés. Ces structures aux multiples ramifications permettraient aux nanoparticules lipidiques de gagner en stabilité tout en leur permettant de s'échapper plus facilement des endosomes une fois à l'intérieur de la cellule.

De fait, les lipides complexes et autres excipients qui composent les nanoparticules lipidiques ont fait l'objet d'intenses recherches des dernières années. Des chercheurs américains ont ainsi développé des moyens pour délivrer l'ARN messager dans la cellule par l'intermédiaire de dendrimères, qui sont des structures composées de multiples acides gras ramifiés et dont la forme générale ressemble aux branches d'un arbre. Enfin, d'autres équipes ont créé des peptides qui, greffés à l'ARN messager, facilitent sa captation par la membrane externe de la cellule qui, en se creusant progressivement, lui permet de pénétrer dans le cytoplasme. L'imagination n'a pas de limite lorsqu'il s'agit de développer le moyen le plus efficace pour faire entrer les précieuses molécules d'ARN messager dans des cellules (**Alameh et al.,2020**).

Ces vecteurs permettent donc à une petite dose de produire une grande quantité d'antigène en raison de l'amplification intracellulaire de l'ARN codant pour l'antigène. Plusieurs essais cliniques utilisant la vaccination à base d'ARN ont été entrepris pour des maladies infectieuses à agents pathogènes tels que le VIH, la rage et le virus zika(**Wallis et al.,2019**).

Il existe deux sortes de vaccins à ARN messager. La première repose sur un ARN conventionnel et le second consiste en un ARN messager dit auto-répliatif (*self-amplifying mRNA*). L'objectif de ces derniers est de démultiplier le nombre de molécules d'ARN messager qui seront traduites en protéines dans le cytoplasme de la cellule.

Les vaccins à ARN auto-répliatif ont la particularité de renfermer une séquence d'un alphavirus ou d'un flavivirus. Ces virus possèdent un ARN qui a la capacité de s'auto répliquer car il code une enzyme appelée répliacase.

La séquence du virus codant les protéines structurales est en revanche remplacée par celle codant l'antigène vaccinal. L'absence quasi-totale de protéines virales structurales empêche la production de particules virales infectieuses correspondant au virus d'origine. L'ARN synthétique qui en résulte est appelé réplicon

Une fois parvenu dans le cytoplasme de la cellule, l'ARN auto-répliatif traduit le gène de la répliacase. Cette enzyme copie alors la longue molécule d'ARN en un brin complémentaire. Celui-ci est ensuite utilisé par la répliacase pour fabriquer une grande quantité d'ARN auto-répliatif. Dans le même temps, la répliacase se fixe sur le brin ARN négatif et commence à reproduire de multiples copies de l'ARN codant la protéine d'intérêt. Cet ARN messager (ou réplicon), est alors transcrit et traduit en une grande quantité d'antigène vaccinal.

❖ **Bientôt des vaccins ARN « trans »**

Outre les ARN messagers, tout juste sortis des laboratoires mais déjà qualifiés de conventionnels, et les ARN auto-répliatifs, encore au stade expérimental, des équipes travaillent à la mise au point d'un troisième format d'ARN messager : le transréplicon (*trans-amplifying RNA* ou *taRNA*).

Cette méthode est bipartite. Elle repose sur un brin ARN codant la répliacase et un second codant la protéine d'intérêt. Le système se compose d'un ARN auto-répliatif dont la séquence correspondant à la répliacase a été supprimée pour être positionnée sur un autre ARN (ARN messager conventionnel ou ARN auto-répliatif). La machinerie d'autorépliation ne se trouve donc pas sur l'ARN qui code l'antigène vaccinal mais sur un second brin d'ARN en position « trans »

Le transréplicon permet la production de l'antigène à un taux 10 à 100 fois supérieur à celui que permet un simple ARN non conventionnel, mais pas encore à celui qui est obtenu via un ARN messager auto-répliatif.

Chez la souris, ce système s'est récemment montré très efficace contre le virus grippal, à une dose de 50 nanogrammes d'antigène vaccinal (hémagglutinine du virus influenza), pour induire une importante réponse en anticorps neutralisants et conférer une réponse immunitaire protectrice vis-à-vis du virus grippal, et ce même sans utiliser de particules nanolipidiques ou tout autre système de livraison de l'ARN.

Des ARN trans-amplifiants ont été administrés aux rongeurs dans une simple solution saline. Si cette approche expérimentale était validée, cette stratégie, constituerait un atout dans la mesure où cela permettrait de réduire la quantité de vaccin à administrer. On parle ici d'« épargne de dose », un même effet immunitaire pouvant être généré par une plus faible dose.

Ces résultats encourageants laissent entrevoir la possibilité d'utiliser de très faibles doses d'ARN non formulé (c'est-à-dire non protégé dans un système de livraison), ce qui réduirait encore les coûts de production de ce type de vaccin. Le fait que la réplicase ne soit plus codée sur le même brin d'ARN que celui qui code l'antigène vaccinal permet de raccourcir le second brin. Cela simplifie d'autant la fabrication des ARN, la production de longues molécules d'ARN *in vitro* représentant un défi technique. Surtout, il devient possible de fabriquer à l'avance des ARN porteurs de la séquence codant la réplicase, ce brin d'ARN demeurant inchangé quel que soit le vaccin à ARN messager utilisé (**Fuller et Berglund, 2020**).

Par ailleurs, ce système gagne encore en sécurité. En effet, il devient théoriquement encore plus difficile pour deux brins d'ARN situés dans le cytoplasme de la cellule de pénétrer dans le noyau.

La sécurité est également améliorée dans la mesure où il est théoriquement possible que la protéine une fois produite dans le cytoplasme puisse elle-même envelopper l'ARN messager qui a servi à sa synthèse. Publiés dans la revue *Cell* en 1994, des travaux ont en effet montré que la volumineuse protéine de surface du virus de la stomatite vésiculeuse (VSV) était capable de totalement envelopper l'ARN viral, jusqu'à former des vésicules se comportant comme des particules infectieuses. Même si ces pseudoparticules virales ne contiennent que l'ARN qui a servi à la production de leur enveloppe et ne renferment donc pas la totalité de l'ARN du virus d'origine, elles peuvent se comporter comme des particules infectieuses. En effet, le risque existe que ces particules trouvent une voie de sortie de la cellule (via des vésicules qui se déversent naturellement dans l'espace extracellulaire) et finissent par pénétrer dans de nouvelles cellules.

Ce risque potentiel serait réduit si l'on avait recours non pas à un, mais à deux ARN messagers (**Fuller et Berglund, 2020**).

Le principal objectif du développement de vaccins à base d'ARN a été un cancer, avec de nombreuses phases cliniques et essais en cours pour les agents pathogènes infectieux, deux des principaux types de vaccins à ARN utilisés sont : sans réplication et auto-amplifiants. Les vaccins à ARN non réplcatif sont plus simples et moins chers à fabriquer, mais peuvent être limités dans la durée et le niveau d'expression qu'ils peuvent atteindre. Les systèmes ARN auto-amplificateurs peuvent être basés sur des séquences et des principes empruntés à virus à ARN simple brin positif, tels que les alphavirus (Alphavax)(Wallis et al.,2019).

❖ Avantages et inconvénients des vaccins à ADN et ARNm :

Un vaccin à ADN comprend un ADN plasmidique qui porte des composants de gènes, principalement une protéine ou une glycoprotéine, d'un agent pathogène qui est compétent pour stimuler les réponses immunitaires de l'hôte. Le vaccin a ADN est souvent accompagné d'adjuvants pour faciliter l'entrée de l'ADN dans des cellules spécifiques ou pour stimuler des réponses immunogènes appropriées(Liu et al.,2021). Néanmoins, la pénétration de l'ADN dans le noyau cellulaire, le fait soumettre au risque d'intégration et de mutation dans le génome de l'hôte (Sumirtanurdin et Barliana, 2021).

Les vaccins à ADN sont également considérés comme supérieurs aux vaccins à ARNm en termes de formulations nécessaires pour maintenir la stabilité et l'efficacité d'administration. Diverses plates-formes de vaccins à ADN ont évolué pour augmenter l'efficacité des vaccins; par exemple, l'électroporation a été utilisée pour l'administration de plasmides, et l'ajout d'adjuvants peut améliorer la réponse immunitaire(Sumirtanurdin et Barliana,2021).

Les vaccins à ADN présentent divers avantages, tels que la facilité relative et le faible coût de production, la rapidité de production et de modification, et la persistance à long terme de l'immunogène, ce qui les rend adaptés à la production dans le système en développement et la capacité d'être renforcé par des immunisations ultérieures.

Bien que les vaccins à ADN soient encore confrontés à de nombreux défis pour être un outil efficace, notamment l'induction de la production d'anticorps contre l'ADN, ils peuvent avoir une immunogénicité relativement faible et les risques d'insertion d'ADN étranger dans le génome de l'hôte qui peuvent rendre la cellule cancéreuse. Sur la base de ces questions préoccupantes, y compris les détails les plus fins concernant le mode de vaccination, l'adjuvant et la structure génétique du vaccin, doivent encore être élucidés (Liu et al.,2021).

Le vaccin à ARN se compose d'un brin d'ARNm qui code pour un antigène spécifique de la maladie et nécessite une traduction chez l'hôte pour être exprimé. Les vaccins à ARN possèdent des avantages similaires à ceux des vaccins à ADN, comme la dégradation naturelle non infectieuse, la production rapide et évolutive, la stimulation de la réponse immunitaire innée et l'induction de la réponse immunitaire des lymphocytes T et B. Mais contrairement aux vaccins à ADN, les vaccins à ARN n'ont pas besoin de traverser l'enveloppe nucléaire et de se dégrader facilement dans les cellules, ce qui réduit considérablement le risque d'intégration dans le génome de l'hôte.

Le vaccin à ARN a également ses inconvénients, comme son instabilité et sa faible immunogénicité, qui peuvent diminuer son efficacité via de multiples voies, et le souci de la formulation optimale pour la vaccination.

Bien que les vaccins à ARN aient également été étudiés pour des vaccins thérapeutiques au cours des deux dernières décennies, il existe encore des difficultés pour la stratégie de développement de vaccins à ARN contre les virus à ARN, comme le VIH avec un taux de mutation plus élevé, et peut devoir adapter la conception et des stratégies de livraison plus fines pour stimuler des réponses similaires. Cependant, les défis qui empêchent la traduction réussie de ces molécules en médicaments sont que l'ARNm est intrinsèquement instable et sujet à la dégradation par les nucléases, et trop gros pour être délivré dans les cellules. Néanmoins, les avancées technologiques récentes ont largement surmonté ces problèmes (**Silveira et al.,2020**).

Plutôt que d'introduire l'agent pathogène entier, les vaccins sous-unitaires comprennent des protéines purifiées ou une glycoprotéine provenant de l'agent pathogène d'intérêt. Efficaces pour induire des réponses immunologiques à médiation humorale et cellulaire et éliminer les risques associés à la manipulation de l'agent pathogène, les vaccins sous-unitaires présentent des avantages distincts par rapport aux vaccins vivants atténués et inactivés. Bien que les vaccins sous-unitaires soient plus sûrs et plus faciles à produire, des adjuvants sont généralement nécessaires pour obtenir des réponses immunogènes optimales et une immunité à long terme(**Liu et al.,2021**).

Tableau 3 : Comparaison des caractéristiques bénéfiques et néfastes des vaccins à ADN et ARN (István Tombač et al., 2021).

Vaccins à ADN	Vaccins à ARNm
Avantages	
Fabrication simple et évolutive, déploiement rapide	
Sécurité (aucun risque d'infection par rapport aux vaccins pathogènes vivants / atténués)	
Meilleure réponse immunitaire cellulaire et humorale (par rapport à l'humorale uniquement avec les vaccins sous-unitaires)	
Persistance, expression prolongée Stable dans des conditions normales, facilité de stockage	La demi-vie courte permet une expression contrôlée cinétique Amplification pendant la fabrication Pas besoin d'entrer dans le noyau Aucune chance d'intégration génomique Synthèse in vitro sans cellules
Désavantages	
Immunogénicité inférieure aux attentes dans les essais cliniques humains à ce jour	
Possibilité théorique d'événements indésirables survenue de l'intégration génomique Livraison nucléaire requise	Étapes supplémentaires requises en production Sensible à la dégradation ex vivo et in vivo

Chapitre 02

II. Vaccination et SARS-CoV-2

- **Généralité sur les coronavirus**

La population mondiale est passée à 7,6 milliards de personnes en 2018, dont plus de la moitié vivent dans des zones urbaines densément peuplées. Les habitudes de voyage ont radicalement changé; Le nombre de personnes, les voyages en avion augmentent chaque année et s'élèveraient à 3,7 milliards en 2016. La forte densité de population, ainsi que l'extrême augmentation des contacts entre les personnes de pratiquement toutes les régions du monde, favorisent fortement la propagation mondiale des agents pathogènes. Ce risque de pandémie est encore accru par le changement climatique qui influe sur la répartition, l'abondance et prévalence des vecteurs pathogènes, favorisant les infections par une gamme de maladies à transmission vectorielle. La survenue d'épidémies pandémiques au cours des dernières décennies a clairement démontré la réalité des menaces de pandémie mondiale (**Rauch et al.,2018**).

Le syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) est apparu pour la première fois en Chine en 2002 et a été causé par un nouveau coronavirus (CoV) qui est probablement originaire de chauves-souris (**Drosten et al.,2003 ; Fouchier et al., 2003**).

Le SRAS CoV a engendré une épidémie touchant le monde entier avec 8 000 patients infectés, soit 774 56 décès dans 26 pays (**Peiris et al.,2003**). Des mesures d'endiguement ont montré leurs efficacités et ont stoppé la propagation de la maladie. Suite à cela, les efforts en cours visant à développer un vaccin contre le SARV-CoV ont été interrompus (**Reperant et Osterhaus,2017**).

En 2012, un nouveau coronavirus est apparu en Arabie saoudite au Moyen-Orient provoquant un syndrome respiratoire (MERS). Comme le SRAS CoV, le virus est originaire de chauves-souris et s'est probablement propagé aux humains via des dromadaires infectés. Selon l'OMS, il y a eu 2143 cas confirmés de MERS, avec 750 décès dans 27 pays depuis 2012. Diverses activités de recherche étaient en cours pour développer un vaccin contre le MERS CoV. Cependant, aucun vaccin homologué n'est encore disponible en 2018 (**Rauchet al., 2018**).

Les coronavirus provoquent des infections respiratoires allant du simple rhume à des maladies plus graves telles que le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS) et le syndrome respiratoire aigu sévère (SARS) (OMS, 2020c). Les coronavirus est un virus enveloppé à ARN simple-brin de polarité positive, Il appartient à la lignée bêta coronavirus 2B (**Lai et al.,2020**).

Il a été identifié pour la première fois à Wuhan en Chine, en décembre 2019, depuis l'épidémie, plus de 16,4 millions de cas de COVID-19 a été confirmé dans le monde entier, avec 653 862 décès au 28

juillet 2020 (Sultana *et al.*, 2020), au début de l'épidémie de pneumonie à Wuhan, des scientifiques ont obtenus les séquences génomiques complètes de cinq patients infectés avec SARS-CoV-2. Ces séquences génomiques partagent 79,5% identité de séquence avec le SRAS-CoV. De toute évidence, le SRAS-CoV-2 est divergente du SRAS-CoV. Il est considéré comme un nouveau beta coronavirus qui infecte l'homme (Zhou *et al.*, 2020).

La séquence du génome du SRAS-CoV-2 partage ~ 80% d'identité de séquence avec SARS-CoV et ~ 50% avec MERS-CoV (Harrison *et al.*, 2020). Les coronavirus humains, sont connus depuis longtemps pour circuler dans la population et provoquent des infections saisonnières généralement bénignes des voies respiratoires associées à des symptômes du «rhume banal». Le SARS-CoV-2 est hautement pathogène, il infecte les cellules de l'épithélium bronchiques, pneumocytes et cellules des voies respiratoires supérieures humains, les infections SRAS-CoV, MERS-CoV et SARS-CoV-2 peuvent évoluer vers des pathologies respiratoires et lésions pulmonaires pour lesquelles aucune un traitement prophylactique ou thérapeutique spécifique a été approuvé à ce jour (V'kovski *et al.*, 2020).

Les premières étapes de l'infection à coronavirus impliquent une liaison spécifique de la protéine du pic de coronavirus (S) et des récepteurs d'entrée cellulaires, qui ont été identifiés pour plusieurs coronavirus et comprennent l'aminopeptidase N humaine (APN), la conversion de l'angiotensine enzyme 2 (ACE2, SARS-CoV et SARS-CoV-2) et la dipeptidyl peptidase 4 (DPP4; MERS-CoV).

L'expression et la distribution tissulaire des récepteurs d'entrée influencent par conséquent le tropisme viral et pathogénicité. Au cours du cycle de vie intracellulaire, les coronavirus expriment et répliquent leur ARN génomique pour produire des copies intégrales incorporées dans des particules virales nouvellement produites (V'kovski *et al.*, 2020).

Enfin, l'ARN génomique comporte deux grands cadres de lecture ouverts (ORF; ORF1a et ORF1b) qui occupent les deux tiers du génome coiffé et polyadénylé. ORF1a et ORF1b codent pour 15 à 16 protéines non structurales (nsp), dont 15 composent le complexe de répllication et de transcription virale (RTC) qui comprend, entre autres, des enzymes de traitement de l'ARN et de modification de l'ARN et une fonction de relecture d'ARN nécessaires pour maintenir l'intégrité du coronavirus > 30kb génome ORF qui codent pour des protéines structurales et les ORF intercalés qui codent pour des protéines accessoires sont transcrit du tiers 3' du génome en forment un ensemble imbriqué d'ARNm sous-génomiques (ARNm sg) (V'kovski *et al.*, 2020).

Les protéines accessoires du coronavirus sont des ensembles très variables de protéines spécifiques du virus qui affichent une conservation limitée même au sein des espèces individuelles, mais ils sont

principalement pensé pour contribuer à moduler les réponses de l'hôte à infection et sont des déterminants de la pathogénicité virale.

Néanmoins, les fonctions moléculaires de nombreux accessoires les protéines restent largement inconnues en raison du manque de homologues aux protéines accessoires d'autres coronavirus ou à d'autres protéines connues⁶ (V'kovskiet *al.*, 2020).

- **Les protéines critiques du SARS-CoV-2**

Les coronavirus sont des virus sphériques enveloppés d'un diamètre de 80 à 120 nm. La capsid virale formée par la nucléoprotéine (N) et le génome est contenue dans l'enveloppe et est de symétrie hélicoïdale. A la surface des particules sont enchâssées trois protéines structurales, la protéine de membrane M, la protéine d'enveloppe E et la protéine S. La protéine S, également nommée spike, donne cet aspect de couronne en microscopie électronique et le nom de cette famille virale.

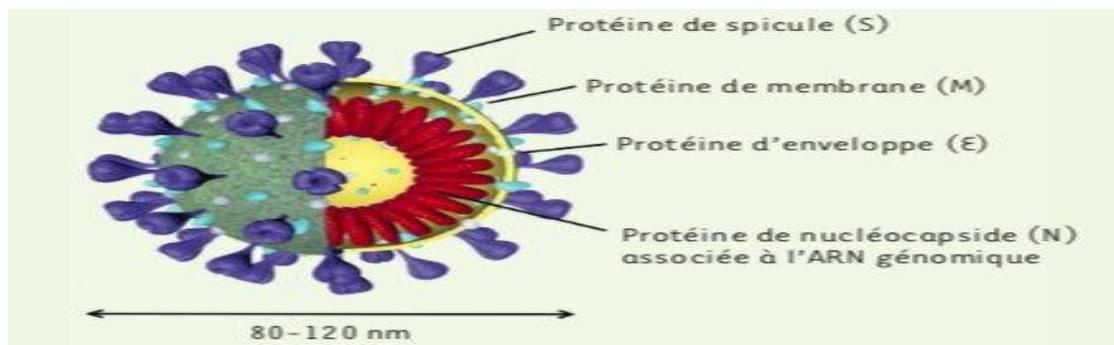


Figure 01: Structure générale d'un coronavirus. (Schéma d'un virion). Les trimères de protéine S sont représentés en violet, la protéine M est en bleu, la protéine E en blanc et la nucléocapside en rouge(V'kovskiet *al.*, 2020).

Tableau 4 : Protéines critiques du SARS-CoV-2 et leur rôle mécaniste (Poduri et al., 2020).

Type de protéine	Rôle mécaniste
Protéine SARS-COV-2	
protéine S	La protéine de fusion transmembranaire glycosylée (type I) est constituée de 1160 à 1400 acides aminés. Impliqué dans la fixation à la cellule hôte <i>via</i> le récepteur ACE2. Clivé par TMPRSS2 à la jonction du peptide de fusion hydrophobe en deux sous-unités, S1 et S2.
<i>Sous-unité S1</i>	Également connu sous le nom de domaine N-terminal ou supérieur. Il possède un domaine de liaison au récepteur (RBD) responsable de la liaison au récepteur ACE2. Le domaine S1 est considéré comme hautement vulnérable à subir une mutation en raison de la pression évolutive et de son contact avec le système immunitaire de l'hôte. Ce domaine est en outre subdivisé en SD-1 et SD-2 qui induit des modifications conformationnelles dans le domaine C-terminal une fois lié aux récepteurs ACE2.
<i>sous-unité S2</i>	Également appelé domaine C-terminal ou domaine inférieur. Ce domaine est beaucoup plus stable avec le processus évolutif et donc moins susceptible de subir une mutation. Ce domaine consiste en une machinerie de fusion impliquée dans la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de la cellule hôte
protéine M	Il s'agit de la protéine la plus abondante dans le SRAS-CoV-2 et responsable de déclencher une réponse humorale spécifique au virus et de neutraliser les anticorps développés contre le virus à l'intérieur de la cellule hôte
protéine N	La protéine est responsable de l'encapsulation et de la protection de l'ARN (+) contenant le génome du SARS-CoV-2. Aide également à la libération du virion en permettant une orientation favorable du virion au niveau des membranes périmoléculaires, ce qui contribue davantage à la libération des particules virales.
protéine E	Il s'agit d'une protéine transmembranaire agissant comme un ionophore. Il aide à la libération de matériel génomique viral à l'intérieur d'une cellule hôte en conjugaison avec la protéase humaine.
Protéines non structurelles (Nsp 1-16)	Le complexe NSP est impliqué et associé au dogme central du génome viral. Le complexe assiste et catalyse la synthèse d'ARN viral, la relecture, le coiffage et finalement la traduction pour permettre la synthèse de polyprotéines (pp1a et pp1ab). Seuls les NSP nécessaires sont discutés ci-dessous
<i>Nsp3</i>	Également appelée protéase de type papaïne (PL ^{pro}). Cette enzyme possède la propriété de deubiquitinase et supprime le système immunitaire inné de l'hôte pour permettre des dommages au virus. Ces enzymes sont également impliquées dans le clivage de pp1a et pp1ab, catalysant ainsi de nombreuses protéines fonctionnelles et effectrices.
<i>Nsp7-Nsp8</i>	Ceci est également appelé un complexe primase, impliqué dans l'initiation <i>de novo</i> et l'extension de l'amorce lors de la traduction de l'ARNm viral
<i>Nsp12</i>	Important Nsp également appelé ARN polymérase dépendante de

	l'ARN; RdRp. Il catalyse la transcription et la réplication du brin d'ARN complémentaire d'une matrice d'ARN donnée du virus, permettant la synthèse de sgRNA ainsi que de protéines structurelles et accessoires
<i>Nsp13</i>	Également appelée hélicase de liaison au zinc (HEL). Ceci est impliqué dans l'initiation de la réplication, permettant le déroulement du duplex ARN/ADN avec la queue 5' ss dans la direction 5'-3
<i>Complexe Nsp10/Nsp16</i>	Cette catégorie de Nsp est un type d'enzymes 2'O-méthyltransférases. Nsp14 est impliqué dans la N7-(guanine)-méthyltransférase, et Nsp16 s'avère être lié à l'activité des 2'O-méthyltransférases, et les deux sont impliqués dans la modification de la structure de la coiffe de l'ARN.
<i>Nsp14-16</i>	Ce complexe est impliqué dans la relecture de l'ARN.

Protéines hôtes

ACE2	Largement distribué dans le corps humain. Existente sous forme soluble (clivée) et insoluble (pleine longueur), qui contiennent toutes deux, deux domaines, un domaine de protéase et le domaine catalytique. Le domaine protéase est connu pour être impliqué dans la liaison S1 du SRAS-CoV-2, et le domaine catalytique est connu pour jouer un rôle physiologique (formation de la forme Ang1-7). La liaison de la protéine de pointe avec le domaine de protéase de l'ACE2 permet sa régulation négative et diminue ainsi son rôle protecteur, qui est encore détérioré aux derniers stades de Covid-19 qui implique l'internalisation de l'ACE2
TMPRSS2	Il s'agit d'une enzyme transmembranaire à sérine protéase (type II) connue pour scinder la protéine S au niveau du site monobasique hydrophobe (jonction 685/686) en deux domaines, S1 et S2.

- **Réorganisation de l'allèle qui code pour la protéine spike**

L'entrée des coronavirus dans les cellules hôtes est médiée par un pic de glycoprotéine (protéine S) (Li et al., 2003; Li et al., 2005; Li, 2016).

Les glycoprotéines de pointe transmembranaires forment des homotrimères qui dépassent la surface virale. La glycoprotéine de pointe est critique pour l'entrée des coronavirus donc c'est une cible antiviral attractif. La protéine S est composée de deux sous-unités fonctionnelles, y compris les sous-unités S1 et S2. La sous-unité S1 se compose de Domaine N-terminal (NTD) et domaine de liaison au récepteur (RBD)(Mei-Yue et al.,2020).

La fonction de la sous-unité S1 est de se lier au récepteur de la cellule hôte. S2 la sous-unité contient le peptide de fusion (FP), heptad repeat 1 (HR1), hélice centrale (CH), domaine de connecteur (CD), répétition heptade 2 (HR2), domaine transmembranaire (TM) et queue cytoplasmique (CT). La fonction de la sous-unité S2 est de fusionner les membranes des virus et des cellules hôtes. Le site de clivage à la frontière entre les sous-unités S1 et S2 sont appelées site de clivage de la protéase S1 / S2. Pour tous les coronavirus, les protéases de l'hôte clivent la glycoprotéine de pointe au site de clivage S2 pour activer les protéines qui sont essentielles pour fusionner les membranes des virus et des cellules hôtes de manière irréversible pour un changement de conformation. Les glycanes N-liés sont essentiels pour un bon pliage, neutralisation des anticorps et décoration de la protéine de pointe trimères intensivement (Walls et al.,2020; Wrapp et al., 2020).

Dans l'ensemble, la structure de la protéine S SRAS-CoV-2 ressemble à la protéine S MERS-CoV étroitement apparentée. Dans la conformation de pré fusion, les sous-unités S1 et S2 restent liées de manière non covalente(Mei-Yue et al.,2020).

- **Changements génomiques récents dans le SRAS-CoV-2**

Les coronavirus tels que le SARS-CoV-2 sont relativement stables grâce à un mécanisme de relecture qui fonctionne pendant la réplication. De nombreuses études génomiques ont néanmoins révélé des changements dans leurs génomes, y compris les mutations et les délétions. La mutation ponctuelle D614G dans la protéine Spike du SRAS-CoV-2, qui est devenue la variante la plus répandue du SRAS-CoV-2, vient d'être mentionnée (Pachetti,2020 ; Korber et al.,2020), mais il a également été observé que cette mutation se regroupait avec une série d'autres mutations ponctuelles, dont une dans le gène de la polymérase. Une des séries d'autres mutations ont ensuite été identifiées, permettant la classification de plusieurs lignées SARS-CoV-2. En même temps, des changements profonds supplémentaires dans le

génomique, c'est-à-dire des suppressions, ont commencé à être signalés, en particulier, une suppression importante dans l'ORF7 gène et une délétion dans le gène nsp2 (**Holland et al.,2020**).

Plus récemment, en analysant un ensemble de données plus complet de plus de 17.000 séquences obtenues à partir de GISAID, l'émergence d'une souche a été identifiée avec une délétion de 9 nucléotides dans le gène nsp1 (nucléotides 686e694 correspondant aux acides aminés 241e243) chez les patients infectés par COVID-19 dans différentes régions du monde.

L'analyse structurale suggère que cette suppression pourrait affecter la région C-terminale de la protéine qui semble être importante pour la régulation de la réplication virale et semblent avoir un effet négatif sur l'expression génique de l'hôte. Ces résultats ont été également confirmés par d'autres groupes qui ont souligné que le SRAS-CoV-2 semble subir de profonds changements génomiques (**Benedetti et al.,2020**).

La mutation D614G est prédominante et est la seule mutation commune dans la protéine de pointe observée jusqu'à présent sur tous les continents. Certaines des protéines de pointe du SRAS-CoV-2 sont associées aux mutations au niveau des sites de glycosylation.

Près de 21 % des protéines de pointe du SARS-CoV-2 n'ont encore subi aucune mutation par rapport à la première séquence de référence humaine du SARS-CoV-2 Wuhan-Hu- qui est devenue disponible en décembre 2019.

Au sein du RBD, des mutations ont été observées pour Y453, G476, F486, T500, N501 qui est proche du récepteur ACE-2. Les mutations présentes à l'interface entre la protéine de pointe et le récepteur ACE-2 pourraient potentiellement affecter les performances du vaccin et les médicaments conçus à l'interface des interactions protéine-protéine. Par conséquent, les mutations seraient des considérations importantes pour le développement d'anticorps (**Lalitha Guruprasad, 2021**).

Alors que la mutation D614G confère un avantage sélectif pour l'aptitude au SRAS-CoV-2, la pertinence biologique exacte d'autres mutations sont encore inconnues. Cependant, nsp 1, qui est également connue sous le nom de protéine leader, est centrale dans l'inhibition de la réponse immunitaire innée antivirale, en particulier l'expression de l'interféron-alpha (**Jauregui et al.,2020**) est probablement le déterminant le plus important de la pathogénicité virale.

Il convient de mentionner qu'un isolat viral d'un SRAS-CoV-2 asymptomatique avait une capacité de réplication sans précédent dans les cellules VeroE6 en l'absence de tout effet cytopathique clair. Même

si c'était une seule observation, et même si le mécanisme moléculaire précis ce qui explique l'absence d'effet cytopathique n'a pas encore été identifiées, l'observation est significative.

De tels résultats pourraient indiquer l'évolution d'une éventuelle nouvelle quasi-espèce virale, mais des données supplémentaires seront nécessaires pour confirmer cette hypothèse. À cet égard, la priorité en ce moment sera le suivi dans le temps des sujets asymptomatiques et pauci symptomatiques pour confirmer la propagation de cette souche virale avec une possible pathogénicité virale diminuée. Des changements du virus se sont produits dans le sens d'une diminution pathogénicité. La diminution de la gravité de l'infection qui est maintenant généralement observée est à première vue liée à la mesures de confinement: elles influencent certainement un paramètre qui est important, c'est-à-dire de l'ampleur de la charge virale qui est transmis, donc en un sens ils altèrent, quantitativement sinon qualitativement le virus. Si les mesures ci-dessus ont également un effet sur la viabilité des particules virales a été suggéré comme une possibilité. Mais, comme nous l'avons vu ci-dessus, les chances que le virus lui-même peut changé (c'est-à-dire muter) dans le sens d'une diminution de la pathogénicité pourraient encore être envisagée (**Giovanetti et al.,2020**).

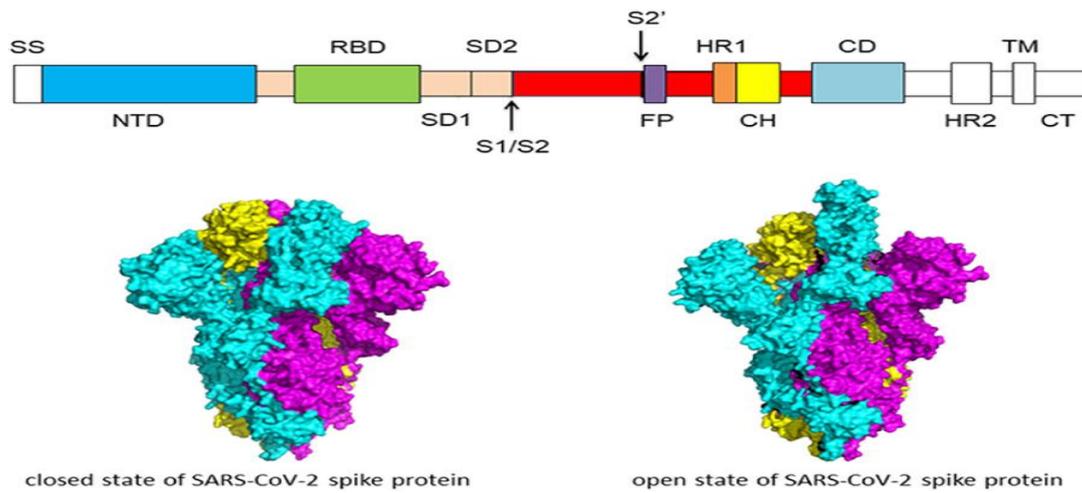
- **Les différents récepteurs cellulaires du SARS-CoV-2**

- ❖ **ACE2** :

ACE2 a été identifié en 2000 comme homologue du récepteur ACE, partageant 40 % d'identité et 60 % de similarité. Il se trouve sur le chromosome X et cartographie précise sur la localisation chromosomique Xp22, il est formé de 18 exons et 20 introns générant 6 variant par épissage alternatif. ACE2, qui se compose de 805 acides aminés, n'a qu'un seul domaine N-terminal extracellulaire contenant le domaine du site catalytique actif, un ancrage membranaire C-terminal et un domaine de liaison au zinc. Il agit comme une carboxypeptidase pour éliminer les acides aminés simples de l'extrémité C-terminale de son substrat(**Scialo,2020**).

Différents types de coronavirus utilisent des domaines spéciaux dans le S1 sous-unité pour reconnaître différents récepteurs d'entrée. Dans le cas de SARS-CoV et SARS-CoV-2, pour pénétrer dans les cellules hôtes, ils reconnaissent le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) sur les cellules de l'hôte via le domaine de liaison au récepteur (RBD). La protéine S a deux formes de structure, y compris l'état fermé et l'état ouvert (**figure2B**). A l'état fermé, les trois motifs de reconnaissance ne dépassent pas de l'interface formée par trois protéines de pointe protomères. À l'état ouvert, le RBD est dans le «haut» conformation. L'état ouvert est nécessaire pour la fusion du SARS-

CoV-2 et les membranes des cellules hôtes, facilitant ainsi SARS-CoV-2 pour entrer dans les cellules hôtes (Walls *et al.*,2020).



(A)

(B)

Figure 02:(A).Schéma de la structure primaire de la protéine de pointe du SRAS-CoV-2 ; (B).Structure Cryo-EM de la protéine de pointe SARS-CoV-2(Mei-Yue *et al.*, 2020)

Différents domaines sont représentés par des couleurs différentes. SS, séquence unique; NTD,Domaine N-terminal; RBD, domaine de liaison au récepteur; SD1, sous-domaine 1; SD2,sous-domaine 2; Site de clivage de la protéase S1 / S2, S1 / S2; Protéase S2', S2'site de clivage; FP, peptide de fusion; HR1, répétition heptade 1; CH, hélice centrale;CD, domaine de connecteur; HR2, répétition heptade 2; TM, domaine transmembranaire;CT, queue cytoplasmique. Le site de clivage de la protéase est indiqué par des flèches

L'état fermé(PDB: 6VXX) de la glycoprotéine SARS-CoV-2 S (à gauche) à l'état ouvert (PDB:6VYB) de la glycoprotéine SARS-CoV-2 S (à droite).

❖ Les intégrines :

Les intégrines sont des récepteurs hétérodimériques de la surface cellulaire qui jouent un rôle dans les processus d'adhésion cellulaire, de migration cellulaire et de signalisation cellulaire.

L'intégrine peut agir comme un récepteur alternatif pour le SRAS-CoV-2 et pourrait être impliquée dans sa transmission et sa pathologie. La protéine de pointe du SARS-CoV-2 a acquis un motif RGD connu pour se lier aux intégrines. Ce motif est absent des autres coronavirus.Le motif de liaison à l'intégrine est présent à la surface de la protéine de pointe, près de la région de liaison au récepteur ACE2(Christian *et al.*,2020).

Les protéines virales avec des motifs RGD favorisent l'infection en liant les hétérodimères d'intégrines tels que $\alpha V\beta 1$, $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$, $\alpha V\beta 6$, $\alpha V\beta 8$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 8\beta 1$ et $\alpha IIb\beta 3$.

Le SRAS-CoV-2 peut également utiliser des intégrines comme récepteurs cellulaires dans une ou plusieurs espèces hôtes, en se liant à elles par un motif RGD conservé (403-405 : Arg-Gly-Asp) qui est présent dans le domaine de liaison au récepteur des protéines de pointe de toutes les séquences du SRAS-CoV-2 analysées à ce jour. La liaison à l'intégrine peut être une cible thérapeutique prometteuse et devrait être testée expérimentalement (**Christian et al.,2020**).

Il ne faut pas négliger l'étude de la réponse immunitaire à l'infection Sars-Cov-2, il est important d'étudier les réponses potentielles du système immunitaire humain, ainsi que le rôle des cellules T spécifiques et également des lymphocytes B lors de l'infection par le SRAS-CoV-2, pour comprendre la réaction appropriée de l'immunité contre le SRAS-CoV-2 d'une manière plus appropriée et concevoir un vaccin sûr et efficace (**Soleimanpour et Yaghoubi,2021**).

- **Réponses immunitaires de l'hôte pendant l'infection par le SRAS-CoV-2 et par la vaccination**

L'absorption du SRAS-CoV-2 par le biais de l'aérosol infecte alors les cellules qui expriment les récepteurs de surface de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) telles que les cellules alvéolaires de type 2.

Le virus peut supprimer les réponses d'interféron antiviral (IFN) de type I qui se traduisent par une réplication incontrôlée du virus. Le recrutement des neutrophiles et des monocytes, ainsi que des macrophages, a provoqué les tempêtes de cytokines ce qui signifie la surexpression des cytokines et chimiokines pro-inflammatoires.

De plus, les anticorps non neutralisants produits via les cellules B peuvent augmenter l'infection par le SRAS-CoV-2 via une amplification dépendante des anticorps (ADE) qui entraîne une augmentation des dommages aux organes. Alors que dans la réponse immunitaire saine qui reçoivent le vaccin, l'inflammation initiale recrute les lymphocytes T CD8 + ainsi que les lymphocytes T CD4 + vers le site d'infection, puis aboutit à tuer les cellules infectées avant que le virus ne se propage. De plus, les anticorps neutralisants chez ces individus peuvent bloquer l'infection virale (**Soleimanpour et Yaghoubi,2021**).

- **L'immunité innée**

Les réponses immunitaires innées de l'hôte contre l'infection par le SRAS-CoV-2 comprennent l'augmentation des neutrophiles totaux, la diminution des lymphocytes totaux, l'augmentation du niveau d'IL-6 et de protéine c-réactive dans le sérum du patient (**Lillie et al.,2020**). Selon les rapports, les

patients atteints de COVID-19 sévère présentaient des taux plasmatiques sanguins plus élevés d'IL-2, d'IL-7, d'IL-10, de facteur de stimulation des colonies de granulocytes (G-CSF), d'IP-10, de MCP1, de protéine inflammatoire des macrophages 1 α (MIP1 α) et le facteur de nécrose tumorale (TNF) (**Huang et al., 2020**).

De plus, un taux plus élevé de monocytes inflammatoires CD14 + CD16 + a été observé dans le sang périphérique de patients atteints de COVID-19 sévère, ce qui a augmenté la libération des cytokines inflammatoires telles que MCP1, IP-10 et MIP1 α (**Zhou et al., 2020**).

Le terme " tempête de cytokines " est utilisé pour décrire la libération incontrôlable de cytokines chez les patients souffrant d'affections sévères entraînant une septicémie virale et des lésions multi-organes induites par l'inflammation ainsi que d'autres complications telles que la pneumopathie, le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA), échec, choc, défaillance d'organe et potentiellement mort.

L'une des réponses clés du système immunitaire inné à l'infection virale est la réponse à l'interféron (IFN) de type I avec sa cascade en aval qui interfère dans le processus de réplication du virus et induit la réponse immunitaire adaptative(**Soleimanpour et Yaghoubi, 2021**).

Réponse des cellules B

Les réponses des lymphocytes B chez les patients COVID-19 se produisent en même temps que les réponses des lymphocytes T auxiliaires une semaine après le symptôme initial (**Thevarajan et al.,2020**).

Les réponses des lymphocytes B se produisent généralement pour la première fois contre la protéine nucléocapside (N) du SRAS-CoV.

Les réponses anticorps contre la protéine S sont observées dans les 4 à 8 jours suivant les premiers symptômes (**Tan et al.,2004**). Les réponses des anticorps neutralisants à la protéine S commencent à se développer à la deuxième ou troisième semaine.

Cependant, dans certains cas, il semble que les patients ne développent probablement pas d'anticorps de longue durée contre le SRAS-CoV-2, ce qui peut entraîner une susceptibilité à la réinfection.

Les preuves suggèrent qu'en raison des excellents résultats cliniques du sérum de convalescence, les réponses anticorps pourraient être efficaces contre le SRAS-CoV-2.

La principale cible de l'anticorps neutralisant est le RBD122 du SRAS-CoV, qui comprend 193 régions d'acides aminés (acides aminés 318–510) dans la protéine S pouvant se lier indépendamment au récepteur ACE2 cible de l'hôte (**Soleimanpour et Yaghoubi,2021**).

Cependant, seuls quelques anticorps monoclonaux précédemment reconnus contre le SRAS-CoV sont capables de se lier au SRAS-CoV-2 ou de le neutraliser, ce qui peut être dû aux variations importantes des RBD de ces deux virus (Li et al., 2005).

De plus, seuls 33 acides aminés de la protéine SARS-CoV S sont conservés dans SARSCoV-2, qui sont responsables de la liaison ACE2 (Li et al., 2005).

Cependant, l'antisérum de souris, qui augmente vers différentes protéines du SARS-CoV, peut neutraliser de manière croisée le pseudovirus SARS-CoV-2. Il confirme l'éventuel chevauchement des épitopes neutralisants dans ces deux virus. Il semble que SARSCoV n'a pas de mécanisme pour échapper ou empêcher la neutralisation des anticorps. Ce fait est confirmé en raison de la capacité des patients infectés par le SRAS-CoV à développer les anticorps neutralisants. Une forme recombinante de protéine S qui contient RBD de SARS-CoV présente l'immunogénicité la plus élevée par rapport aux autres fragments de protéine S recombinante testés, ce qui montre la capacité du système immunitaire à cibler efficacement les épitopes neutralisants (Qiu et al., 2005).

❖ Réponse des lymphocytes T

Les réponses des lymphocytes T et B sont détectées dans le sang du patient 1 semaine après les premiers symptômes de l'infection par le SRAS-CoV-2 (Xu et al., 2020). Les preuves suggèrent que les réponses des lymphocytes T CD8 + sont plus fréquentes dans l'infection par le SRAS-CoV que les réponses des lymphocytes T CD4 +.

Les cellules T CD8 + ont un rôle crucial dans l'élimination et la destruction des cellules infectées par le virus, mais les cellules T CD4 + jouent un rôle essentiel dans l'amorçage des cellules T CD8 + et des cellules B, et elles jouent également un rôle dans la génération de cytokines, ce qui en résulte. Dans le recrutement des cellules immunitaires sur le site de l'infection. Selon les rapports publiés, des cellules T mémoire spécifiques aux coronavirus sont développées chez les patients infectés par le SRAS-CoV après la guérison, qui a été détectée jusqu'à 2 ans après cela (Soleimanpour et Yaghoubi, 2021).

Les cellules T CD4 + jouent un rôle dans la production d'IFN γ , de TNF et d'IL-2. Ces résultats suggèrent que les patients atteints de COVID-19 présentent une réponse cellulaire Th1, utilisant principalement l'immunité cellulaire pour contrôler ou inhiber l'infection (Janice et al., 2012). Les cellules T helper de type 1 (Th1) ont un rôle crucial en tant qu'immunité adaptative vis-à-vis des infections virales. Notamment, les cellules T cytotoxiques sont responsables de la destruction des cellules infectées par des virus. Des études antérieures sur des animaux pour tester le vaccin candidat contre le SRAS-CoV montrent l'infiltration des éosinophiles médiée par les cellules Th2. Les fortes réponses des lymphocytes

T sont associées à des anticorps neutralisants plus élevés, tandis que des taux sériques plus élevés de cytokines Th2 (telles que IL-4, IL-5, IL-10) sont plus observés dans le groupe mortel (**Soleimanpour et Yaghoubi, 2021**).

La réduction et l'épuisement fonctionnel des cellules T chez les patients atteints de COVID-19 est l'une des raisons les plus importantes de leur mortalité. Le nombre total de cellules CD8 + T et CD4 + T est considérablement diminué chez les patients COVID-19, en particulier ceux qui ont besoin de soins intensifs (**Diao et al., 2019**). Le nombre total de cellules T chez ces patients est négativement corrélé avec le niveau de concentration sérique de l'IL-6, IL-10 et TNF- α , tandis que le taux sérique de ces cytokines chez les patients en convalescence est significativement réduit ou rétabli. Nombre de lymphocytes T (**Soleimanpour et Yaghoubi, 2021**).

En plus de diminuer le nombre de lymphocytes T montrant le niveau d'expression de certains facteurs immuno-inhibiteurs tels que la mort programmée-1 (PD-1), l'immunoglobuline mucine-3 des lymphocytes T (TIM-3) est significativement augmentée sur les lymphocytes T. surface des patients COVID-19. L'augmentation de l'expression du PD-1 et du Tim-3 sur les cellules T est associée à la progression des patients du stade prodromique au stade manifestation symptomatique. Ainsi, une des principales raisons de mortalité chez les patients COVID-19 est l'épuisement fonctionnel et la réduction significative du nombre de lymphocytes T qui peuvent survenir après la tempête de cytokines (**Diao et al., 2019**).

D'autres études sont nécessaires pour déterminer la nature du rôle protecteur des réponses des lymphocytes T, ce qui peut aider à déterminer les stratégies pour les vaccins. Cependant, les preuves suggèrent que les cellules T spécifiques aux coronavirus ont un rôle essentiel dans la destruction du virus et dans la prévention du développement de la maladie, ce qui est un point important qui devrait être pris en compte dans les stratégies vaccinales (**Lurie et al., 2020**).

Compte tenu de la transmission rapide et de la propagation asymptomatique du COVID-19, il est clair qu'un vaccin efficace est nécessaire pour amener les gens à la normale. Cependant, même lorsqu'un effectif vaccin contre le SRAS-CoV-2 devient disponible, la durée de l'immunité induite par le vaccin est encore largement inconnue. Des études antérieures sur le SRAS ont montré que les IgG spécifiques au SRAS et les anticorps neutralisants n'ont été maintenus que pendant environ 2 ans chez les patients qui se sont rétablis de l'infection par le SRAS-CoV (**Cao et al., 2007; Wu et al., 2007**).

En conséquence, l'immunité permanente est moins susceptible d'être le cas pour les vaccins COVID19, et une politique de vaccination régulière pourrait être nécessaire à l'avenir. De plus, on ne sait

toujours pas ce qu'est le titre d'anticorps neutralisant minimal qui peut fournir un effet protecteur contre l'infection par le SRAS-CoV-2. Il est dit que plus la vaccination avec des anticorps neutralisants n'est plus élevée, meilleur sera l'effet protecteur. Il est observé que dans les cas de réinfection les malades ne présentent que des symptômes légers ou inexistantes que lors de leur première infection, ce qui pourrait ne pas être suffisante pour induire de puissants anticorps neutralisants (**Li et al.,2020**).

Par conséquent, il est très important que de nouvelles études caractérisent la corrélation entre l'anticorps neutralisant et l'effet protecteur pour guider le développement du vaccin contre le COVID-19

Dernier point mais non le moindre, diverses mutations ont été détecté dans le génome du SRAS-CoV-2 mais heureusement que la mutation n'empêche pas les anticorps neutralisants de se lier au SARS-CoV-2 et donc n'offre pas de résistance à la vaccination (**Zhang et al.,2020**).

Cependant, il est possible que de telles mutations à échappement immunitaire apparaissent à l'avenir et rendent le développement du vaccin contre le COVID-19 encore plus difficile(**Li et al.,2020**).

Il est pourtant urgent de développer des vaccins efficaces et sûrs pour contrôler la nouvelle occurrence de COVID-19 et pour réduire la morbidité et mortalité liées à l'infection du SRAS-CoV-2 (**Mei-Yue et al.,2020**).

- Vaccins contre le SARS-CoV-2

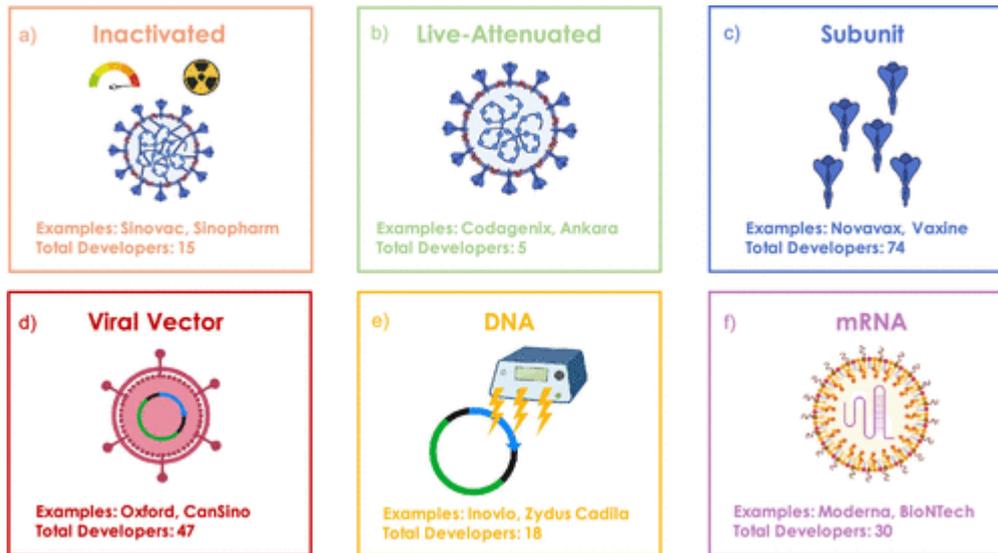


Figure 03 : Les différents types de vaccins actuellement en cours de développement pour le SRAS-CoV-2. (a) Vaccin inactivé qui utilise le virus natif rendu réplication déficient par traitement thermique ou chimique, (b) vaccin vivant atténué qui peut se répliquer, mais de manière limitée qui ne peut pas provoquer la maladie, (c) vaccin sous-unitaire qui incorpore des sous-sections du virus natif telles que la protéine S, (d) vaccin vecteur viral qui encapsule le génome d'un virus faiblement pathogène différent avec un ADN supplémentaire qui code pour l'antigène viral cible, (e) vaccin à ADN utilisant un ADN plasmide qui code pour l'antigène cible, souvent administré par électroporation, (f) vaccin à ARN d'ARN encapsulé dans un LNP pour diminuer la dégradation de l'ARN et augmenter l'efficacité de la traduction (Chung *et al.*,2020).

La protéine S est particulièrement importante pour les cellules virales la liaison au récepteur et fusion de la membrane virale-cellule, ce qui suggère qu'il peut être une cible efficace pour la conception vaccin contre le CoV. En fait, des études ont montré que les anticorps générés contre la protéine S sont durables et immuno-dominantes chez les patients atteints du SRAS récupérés (Li *et al.*,2020).

Plusieurs études ont démontré que l'anticorps antiS peut neutraliser le SRAS-CoV et le MERS-CoV et fournit des effets protecteurs chez les animaux et les humains. De plus, de nombreux vaccins à base de protéines S contre le SRAS-CoV et le MERS-CoV suscitent de puissantes réponses immunitaires et des effets protecteurs dans les modèles précliniques. Ces résultats confirment que la protéine CoV S sert de cible vaccinale idéale pour induire des anticorps neutralisants et une immunité protectrice. Outre la protéine S, d'autres protéines structurales ont également été testés comme cibles vaccinales(Li *et al.*,2020).

- **Vaccins à base de protéines N :**

Ils ne peuvent généralement pas induire d'anticorps neutralisants, probablement du fait que la protéine N n'est pas affichée sur la surface du CoV(Wang et al.,2020).

Cependant, la protéine N a l'avantage d'être plus conservée parmi les espèces de CoV que la protéine S, ce qui en fait une cible potentielle pour un inducteur de lymphocytes T. Une étude récente a montré qu'un vaccin vectoriel contre un virus exprimant la protéine N peut induire CD4 + T protection dépendant des cellules contre le SRAS-CoV et le MERSCoV, suggérant la faisabilité de la cellule T à base de protéine N induisant des vaccins contre le CoV(Li et al.,2020).

- **Vaccins à base de protéines M :**

Ils peuvent induire un taux élevé d'anticorps chez les animaux immunisés. Cependant, aucun anticorps de neutralisation ou données d'immunité protectrice dans les modèles précliniques ont été démontrés.

- **Vaccins à base de protéines E :**

Plusieurs études de vaccination ont été rapportées à ce jour, mais aucune d'entre eux n'a démontré l'induction d'anticorps neutralisants ou l'immunité protectrice.

- **Vaccins à base d'ARNm :**

Le vaccin à ARNm contient des ARNm codant pour une protéine de pointe dans des nanoparticules lipidiques et les délivre aux cellules hôtes. L'immunisation est réalisée en traduisant les protéines de pointe dans le cytoplasme des cellules hôtes et en les présentant à la surface cellulaire. L'amorçage des cellules T CD4+ par les cellules dendritiques conduit à l'activation des lymphocytes cytotoxiques CD8+ et à la production d'anticorps à partir des cellules B.

L'essentiel est que l'ARNm utilisé dans le vaccin n'est pas naturel. S'il s'agit d'un ARNm naturel, il sera détruit avant d'être délivré ou traduit dans l'hôte. La solution à ce problème est l'utilisation d'ARN modifié par les nucléosides (ARNMod). Parmi les nucléosides de l'ARNm, l'uridine a été convertie en pseudouridine et la cytosine a été changée en méthylcytosine et les a placées dans plusieurs endroits de la séquence d'ARN. En conséquence, la structure secondaire de l'ARN change. Ainsi, la ribonucléase de l'hôte (RNase) leur permet de passer sans les reconnaître et les casser (Yoo,2021).

De plus, les récepteurs de type péage (TLR)-7 et -8, qui étaient en service de sentinelle dans l'endosome, les autorisent également sans les reconnaître.ModRNA peut ainsi arriver en toute sécurité à destination et faire ce qu'il veut. Étant donné que cette plate-forme ne délivre que l'ARNm au cytoplasme

de l'hôte, il ne semble pas y avoir de risque d'infection ou de mutagenèse d'insertion, et elle peut activer non seulement les cellules T CD4+ mais également les CTL CD8+ par présentation croisée. Cependant, il n'a pas encore été vérifié en termes d'efficacité à long terme, et on ne sait pas si l'administration par voie muqueuse respiratoire sera réussie (Yoo, 2021).

Les vaccins utilisent un ARNm modifié codant pour le SARS-CoV-2 de pleine longueur, où la séquence d'acides aminés des deux est modifiée à deux endroits en proline (une amine secondaire), qui verrouille le pic dans la conformation de pré-fusion. Les vaccins sont stabilisés dans des nanoparticules lipidiques qui agissent également comme adjuvants (Benfield et Helweg, 2021).

✓ BNT162b2 de Pfizer-BioNTech

Le vaccin BNT162b2 est l'un des deux vaccins actuellement approuvés pour une utilisation complète. Il se compose de deux calendriers de vaccination espacés de 21 jours. Il a été efficace à 95 % pour protéger le COVID-19 dans un essai clinique mené auprès d'un total de 43 548 participants. Le stockage doit être à -70°C, et il peut être réfrigéré jusqu'à 5 jours après décongélation (Yoo, 2021).

Les résultats de l'analyse intermédiaire respective des études sont disponibles.

Dans une étude de phase III, randomisée en double aveugle contre placebo, l'effet de la vaccination avec une dose de 30 µg de vaccin à ARNm testé. Dans l'étude, 43 448 personnes ont été randomisées; 21720 personnes à recevoir BNT162b2 et 21 728 personnes au placebo à 21 jours d'intervalle. Les critères d'inclusion étaient l'âge ≥ 16 ans, rapide ou maladie chronique stable, y compris l'infection par le VIH, l'hépatite B et l'hépatite C. Les critères d'exclusion étaient avoir une ancienne infection par le SRAS-CoV-2, traitement immunosuppresseur ou maladie immunocompromisante.

Le primaire le point final était l'effet protecteur du BNT162b2 contre le COVID-19 confirmé au plus tôt sept jours après la deuxième dose de vaccin. Un critère secondaire était l'effet protecteur du vaccin contre le COVID-19 sévère (Benfield et Helweg, 2021).

La durée médiane d'observation après la première dose était d'environ deux mois. Pendant la période d'observation, c'est-à-dire à partir de sept jours après la deuxième dose, huit personnes se sont développées dans le groupe vacciné (3,6 pour 1000 personnes) et 162 personnes dans le groupe placebo (72,9 pour 1000 personnes) COVID-19 correspondant à une efficacité vaccinale de 95,0%.

L'efficacité du vaccin a été estimée à 52% après la première et avant la deuxième dose, mais jusqu'à 89% la semaine précédente la deuxième dose. L'effet protecteur s'est produit après env. 12 jours. L'efficacité du vaccin était comparable pour un nombre de groupes prédéfinis en termes d'âge, de sexe, de

race, d'origine ethnique, de poids et de maladie chronique. Effets secondaires sous forme de la douleur au site d'injection était légère en env. 50%, modérée dans 20 à 30% et sévère chez quelques-uns. Rougeur et gonflement s'est produite dans <10%. La fréquence des effets secondaires locaux était comparable après la première et la deuxième dose(**Benfield et Helweg,2021**).

Les effets indésirables systémiques survenus plus fréquemment chez les personnes vaccinées que chez les personnes non vaccinées étaient la fièvre, la fatigue, maux de tête, douleurs musculaires et articulaires. La fréquence a été multipliée par 3 à 4 après la deuxième dose. Il n'y avait pas de niveau effets secondaires.

✓ ARNm-1273 de Moderna

L'ARNm-1273 de Moderna, ainsi que le BNT162b2, sont désormais approuvés pour une utilisation complète. À la suite de l'étude de phase 3 menée avec un total de 30 420 volontaires, l'efficacité du vaccin était de 94,1 %.Le stockage doit être à -20°C, et il peut être réfrigéré jusqu'à 30 jours après décongélation (**Yoo,2021**).

Dans une étude de phase III contrôlée par placebo et à l'insu des observateurs, 30420 personnes ont été randomisées: 15210 individus recevront 100 µg d'ARNm-1273 et 15210 individus recevront un placebo par voie intramusculaire pendant 28 jours intervalles(**Baden et al., 2021**). Les critères d'inclusion étaient l'âge \geq 18 ans et le risque d'infection par le SRAS-CoV-2. Critère d'exclusion était auparavant infecté par le SRAS-CoV-2. Le critère d'évaluation principal était l'effet protecteur de l'ARNm-1273 contre confirmé COVID-19 au plus tôt 14 jours après la deuxième dose de vaccin. Un critère secondaire était le critère de protection effet du vaccin contre le COVID-19 sévère. La durée médiane d'observation après la première dose était d'env. Deux mois. SARSCoV-2 et COVID-19 sont survenus chez 185 participants (56,5 pour 1000 personnes) dans le groupe placebo et 11 participants du groupe ARNm-1273 (3,3 pour 1 000 individus) correspondant à une efficacité vaccinale de 94,1% (**Benfield et Helweg, 2021**).

L'efficacité du vaccin était de 95,2% 14 jours après la première dose. Trente dans le groupe placebo ont développé un COVID19 sévère, mais aucun dans le groupe ARNm-1273. L'efficacité du vaccin était comparable pour un certain nombre de groupes prédéfini pour l'âge, le sexe, la race, l'origine ethnique et le risque de COVID-19 grave. Effets secondaires sous forme de douleur au site d'injection était léger en env. 60%, modérée chez 10 à 25% et sévère chez quelques-uns. Une rougeur et un gonflement sont survenus chez <10%. La fréquence des effets secondaires locaux était comparable après la première et la deuxième dose.

Les effets secondaires systémiques, qui sont survenus plus fréquemment chez les vaccinés que chez les non-vaccinés, étaient la fièvre, la fatigue, les maux de tête, les muscles et douleurs articulaires, nausées ou vomissements et frissons. La fréquence a été multipliée par 3 à 4 après la deuxième dose.

	Moderna	pfizer
Composition du vaccin	ARNm codant pour la protéine S du coronavirus stabilisée sous sa forme de préfusion dans des gouttelettes lipidique	ARNm codant pour la protéine S du coronavirus stabilisée sous sa forme de préfusion dans des gouttelettes lipidiques
Concentration du vaccin	100 µg dans 0,5 millilitre de solution saline	30 µg dans 0,3 millilitre de solution saline

Le point sur lequel les deux vaccins divergent le plus est l'efficacité :

	moderna	pfizer
Efficacité globale	94,1 % (IC de 95 % : 89,3 à 96,8 %)	95 % (IC de 95 % : 90,3 à 97,6 %)
Efficacité pour les ≥ 65 ans	86,4 % (IC de 95 % : 61,4 à 95,2 %)	94,7 % (IC de 95 % : 66,7 à 99,9 %)
Effets secondaires locaux les plus fréquents	Douleur au site d'injection	Douleur au site d'injection
Effets secondaires systémiques les plus fréquents	Fatigue Maux de tête myalgie	Fatigue Maux de tête myalgie

✓ CVnCoV de CureVac

Il s'agit d'un autre vaccin à ARNm en cours de développement après Moderna et Pfizer-BioNTech, et un essai clinique de phase 2b/3 est actuellement prévu. Contrairement aux deux vaccins à ARNm précédents, il utilise un ARNm naturel non modifié. Cela peut être considéré comme étrange car il s'agit d'un cadre différent du concept d'ARN Mod décrit jusqu'à présent, mais en fait, ne pas modifier l'ARNm n'est pas toujours défavorable à l'induction de l'immunogénicité. Comme l'ARNm lui-même peut également induire une réponse immunitaire avec une toxicité associée, il peut également induire une forte immunité innée, notamment une activité accrue de l'interféron de type 1 (Yoo, 2021).

○ Vaccins vectoriel :

Ce vaccin est injecté dans le corps humain avec de l'ADN codant pour la protéine de pointe intégrée dans un adénovirus ne se répliquant pas. Lorsque l'adénovirus en tant que navette pénètre dans la cellule hôte et atteint le noyau, il traduit les protéines de pointe et les présente aux cellules immunitaires de l'hôte pour induire l'immunisation. Il y a quelque chose que beaucoup de gens comprennent mal. L'ADN codant pour le pic n'est pas inséré dans le chromosome hôte. Par conséquent, un événement indésirable comme la mutagenèse induite par insertion ne se produit jamais.

Il y a un autre problème qui inquiète vraiment. Comme tout le monde le sait, l'adénovirus est l'un des virus les plus courants qui causent le rhume, de sorte que la plupart des gens sont immunisés contre l'adénovirus. Par conséquent, il est hautement probable que la fonction du vecteur adénoviral soit significativement perturbée en raison de cette immunité préexistante. Ceci soulève des inquiétudes en particulier lors de l'utilisation d'un adénovirus recombinant 5 (rAd5) et rAd26, qui sont des adénovirus humains. Afin de surmonter ce problème, l'administration d'un vaccin directement par voie respiratoire (par exemple, pulvérisation intranasale) est à l'étude. En effet, la muqueuse respiratoire est la zone qui n'est pas influencée par une immunité préexistante (Yoo, 2021).

Il existe de très nombreux projets de vaccins qui font déjà l'objet d'essais cliniques avancés.

1. Adénovirus du chimpanzé :

✓ AZD-1222 d'AstraZeneca/ Université d'Oxford:

L'AZD-1222 fait actuellement l'objet d'un essai clinique de phase 2/3 après une expérimentation animale réussie, et un résultat controversé a été rapporté dans une analyse intermédiaire. L'efficacité du vaccin chez les participants qui ont reçu deux doses standard (jours 0 et 28) était de 62,1 %, tandis que chez les participants qui ont d'abord reçu une demi-dose (en raison d'une erreur involontaire) puis ont reçu une dose standard, l'efficacité était de 90,0 %. . Cependant, sur la seule base de ces résultats, on ne peut pas conclure que la demi-dose est en fait la dose minimale la plus efficace. Peut-être parce que le nombre de participants n'était pas suffisant, il serait plus raisonnable de l'interpréter comme une erreur statistique. En tout cas, ce vaccin a encore beaucoup à tester. Actuellement, un essai clinique supplémentaire de phase 3 est en cours.

Et une autre opinion a été suggérée qu'une efficacité de 95% peut être attendue si l'injection de rappel est administrée 3 mois après la première vaccination. Cependant, cette « formule gagnante » doit être davantage vérifiée scientifiquement. L'AZD-1222 a été autorisé pour la première fois au Royaume-

Uni (Royaume-Uni), bien que l'essai clinique de phase 3 ne soit pas encore terminé et que la vaccination à l'échelle nationale ait commencé depuis décembre 2020. Il présente des avantages en termes d'approvisionnement et de transport car il peut être stocké entre 2°C et 8°C jusqu'à 6 mois (Yoo, 2021).

2. Adénovirus humains :

✓ Vaccin Sputnik

Il s'agit d'un vaccin développé par le Centre national de recherche en épidémiologie et en microbiologie du nom de l'académicien honoraire NF Gamaleya du ministère de la Santé de la Fédération de Russie. Il s'agit d'un vaccin COVID-19 hétérologue utilisant rAd26 et rAd5 comme vecteurs adénoviraux.

Mais contrairement au vaccin du laboratoire britannique qui se base sur un adénovirus de chimpanzé, le vaccin russe utilise deux adénovirus humains qui diffèrent entre la première et la deuxième injection. Selon le fabricant, cette technique permet d'obtenir une meilleure réponse immunitaire. *"Les adénovirus humains sont considérés comme parmi les plus faciles à manipuler de cette manière et sont donc devenus très populaires en tant que vecteurs"*, indique le centre national russe d'épidémiologie et de microbiologie Gamaleya sur son site internet dédié au vaccin. De plus, ces adénovirus humains sont sans danger puisqu'ils existent depuis très longtemps et sont bien connus : ce sont ceux qui provoquent de simples rhumes.

Sputnik V est le seul vaccin anti-Covid à être composé de deux vecteurs différents contre le Sars-CoV-2. Le vecteur d'adénovirus de la première injection provoque habituellement des infections virales respiratoires aiguës. Un gène codant pour la protéine S, est inséré dans chaque vecteur. Le corps peut alors commencer à se défendre. La deuxième dose, administrée 21 jours après la première, comporte un autre vecteur adénoviral chargé de stimuler la réponse immunitaire. Sputnik V présente l'avantage non négligeable de pouvoir être conservé entre +2°C et +8°C.

✓ **Annonce26.COVS de Johnson & Johnson**

Il s'agit d'un vaccin qui utilise rAd26 comme vecteur adénoviral. Johnson & Johnson a souligné que le SRAS-CoV-2 peut être immunisé avec succès avec une seule dose standard. Les résultats intermédiaires de l'essai clinique de phase 1/2 en cours ont été publiés. Au 29 janvier 2021, un essai clinique de phase 3 a révélé que le vaccin avait une efficacité moyenne de 66 % (72 % aux États-Unis, 66 % en Amérique latine et 57 % en Afrique du Sud)(**Yoo, 2021**).

Cette approche n'est pas nouvelle. Johnson & Johnson a utilisé une méthode similaire pour fabriquer son vaccin anti-Ebola. Le vaccin anti-Covid d'AstraZeneca-Oxford est également du même type.

Le sage recommande d'utiliser le vaccin Ad26.CoV2.S de Janssen en une dose (0,5 ml) administrée par voie intramusculaire. Il convient de respecter un intervalle minimum de 14 jours entre l'administration de ce vaccin et celle de tout autre vaccin contre d'autres maladies. Cette recommandation peut être modifiée quand des données sur la co-administration avec d'autres vaccins seront disponibles.

Les résultats de l'étude de phase III n'ont pas encore été publiés. Les résultats des phases I et II sont publiés là où deux doses (5×10^{10} et 10^{11} particules virales) ont été étudiées en une seule dose ou à 56 jours d'intervalle(**Sadoff et al.,2021**).

Des anticorps neutralisants ont été détectés à 90% après une dose et à 100% après deux doses. Douleur et tendresse par site d'injection rapporté dans 60 à 80% des cas et effets secondaires systémiques sous forme de fatigue, fièvre, céphalées ou des douleurs musculaires ont été signalées dans 10 à 70% des cas. L'étude de phase III a utilisé une dose unique de 5×10^{10} particules virales. L'efficacité du vaccin serait de 85%(**Benfield et Helweg,2021**).

✓ **Vaccin COVID-19 à vecteur CanSino 'rAd5 :**

Il utilise rAd5 comme vecteur et un essai humain de phase I a été publié(**Yoo, 2021**).

- **Vaccins à base de virus inactivés :**

- ✓ **Sinovac et sinopharme :**

Les Vaccins à base de virus inactivés appartiennent à une plateforme technologique très traditionnelle qui a conduit à de nombreux vaccins. Les vaccins produits utilisant cette méthode sont plus stables que les vaccins vivants atténués mais leur limite est principalement liée à la courte durée de la mémoire immunitaire qui nécessite l'inoculation de quantités plus élevées de vaccin ou l'association du micro-organisme inactivé avec un adjuvant. la réponse immunitaire suscitée est dirigée non seulement contre la protéine Spike mais aussi contre de nombreux autres antigènes du SRAS-CoV-2.

Alors que la réponse induite est généralement plus faible en ce qui concerne celle induite par des virus atténués, le vaccin est plus facile à manipuler, moins cher et beaucoup plus sûr.

Le SARS-CoV-2 est inactivé en exploitant différents techniques chimiques. Tous ces vaccins candidats sont injectés par voie intramusculaire (Yoo, 2021).

Chapitre 03

III. Médicaments et Sars-CoV-2

Bien que des réponses neutralisantes de vaccins candidats aient été détectées, le degré de protection que ces vaccins candidats peuvent offrir contre l'infection par le SRAS-CoV2 n'est pas clair. L'échelle de l'évolution dans le temps était relativement petite dans ces essais cliniques. La question de savoir si ces vaccins candidats peuvent offrir une protection durable reste incertaine et constituera des réponses à l'avenir. Les sujets inclus dans ces études étaient tous des adultes en bonne santé (**Liu et al., 2021**).

Il ne faut toute fois pas abandonner la piste thérapeutique, à l'heure actuelle, il n'existe aucune thérapie efficace éprouvée pour le Covid-19.

Au cours du premier mois de la pandémie mondiale de Covid-19, il y a eu une augmentation des essais cliniques de réutilisation de médicaments pour la plupart déjà approuvé

Des centaines d'essais cliniques de médicaments potentiels liés à Covid-19 ont été lancé à l'échelle mondiale, y compris l'essai à grande échelle SOLIDARITY de l'OMS.

Le développement de nouveaux médicaments antiviraux prend du temps. À accélérer le processus, la réutilisation de médicaments existants peut potentiellement être une stratégie efficace pour le développement de médicaments. Cela a conduit à la quête pour de nouvelles molécules antivirales et, surtout, de nouvelles cibles pour le développement thérapeutique (**Poduri, 2020**).

Les médicaments à l'étude qui pourraient avoir une activité pour le Covid-19, sont les antiviraux, les inhibiteurs de protéase, les antibiotiques, les statines, les inhibiteurs du RAAS, les corticostéroïdes, les antirhumatismaux et les antinéoplasiques, diverses classes de médicaments, y compris les anti-inflammatoires, les modulateurs immunitaires et les anesthésiques sont en cours d'évaluation préclinique ou dans des essais cliniques pour évaluer leur possible réutilisation pour Covid-19(**Poduri,2020**).

Par conséquent, la réorientation des médicaments est un moyen potentiellement rapide et une stratégie raisonnable pour découvrir de nouveaux traitements à partir de médicaments existants, et peut réduire le coût par rapport à la découverte de nouveaux médicaments. Cependant, pour les médicaments réutilisés, un profil bénéfice-risque dans les essais cliniques peut échouer pour toute nouvelle indication. D'autres aspects tels que la sélection de doses appropriées qui affecte la relation dose-réponse peut également être pris en considération. Donc, un développement plus récent utilisant les médicaments dépendront non seulement des preuves réglementaires d'efficacité, d'innocuité, et qualité, mais aussi sur la rentabilité comparative et les comparaisons efficacité clinique(**Poduri, 2020**).

- Il y a les médicaments qui se lient au récepteur ACE2 :

L'une des mesures qui pourraient rivaliser avec succès avec l'ACE2 endogène est l'ACE2 soluble ou un domaine Fc fusionné à l'ACE2 qui peut agir comme un leurre pour éloigner le SARS-CoV-2 de l'endogène ACE2 et lui-même se lient au virus envahissant. La forme soluble flotte dans la circulation sanguine et peut agir comme un intercepteur compétitif du SARS-CoV-2 de la liaison à l'ACE2 pleine longueur ancrée dans la membrane cellulaire. Cela empêche le virus de se multiplier et d'endommager les cellules. Les récepteurs ACE2 endogènes sont épargnés et peuvent continuer à contrecarrer la voie canonique de l'Ang II. Cependant, les niveaux circulants endogènes d'ACE2 soluble sont inférieurs à la détection du seuil et sont peu susceptibles de séquestrer le virus en circulation et le diffuser (Poduri, 2020).

- Il y a aussi les médicaments interférant avec le mécanisme de protéolyse du virus dans l'hôte cellules :

Lors de l'entrée dans les cellules hôtes, le génome viral est libéré sous forme d'ARN positif simple brin. Par la suite, il est traduit avec un mécanisme de décalage de cadre ribosomique générant deux polyprotéines, pp1a et pp1ab. Les polyprotéines sont codées par deux protéinases, 3-protéase de type chymotrypsine (3CLpro, également appelée protéase principale Mpro) et la protéinase de type papaine (PLpro) (Poduri, 2020).

Ces deux protéases sont responsables du clivage des polyprotéines traduites à partir de l'ARN viral en protéines fonctionnelles ou effectrices pour la réplication et l'encapsidation du virus dans les cellules hôtes. Inhiber l'activité de cette enzyme bloqué la réplication virale. PLpro se comporte comme une ubiquitinease qui peut déubiquitiner certaines protéines de la cellule hôte comme l'interféron et le NF- κ B, entraînant la suppression du système immunitaire inné. Les deux sont considérés comme des cibles thérapeutiques intéressantes car ils jouent un rôle central dans la réplication virale et les fonctions de transcription grâce à une protéolyse étendue de deux polyprotéines répliques, pp1a et pp1ab (Poduri, 2020).

Les médicaments contre le SIDA, le lopinavir et le ritonavir, ont été explorés chez les patients atteints de Covid-19 léger et modéré. Cependant, aucun bénéfice n'a été observé avec le traitement.

Le Lopinavir/Ritonavir, sous le nom de marque Kaletra, appartient à la classe des inhibiteurs de protéase qui est particulièrement utilisé dans le traitement des rétrovirus qui aident au traitement du SRAS-CoV-2. Bien qu'il ne guérisse pas le VIH, il prévient les infections secondaires en diminuant le nombre de virus, qui sont les symptômes caractéristiques du syndrome d'immunodéficience acquise (Liu et Wang, 2020 ; Liu et al., 2020).

La réplication du SRAS-CoV-2 dépend du clivage d'une polyprotéine en une ARN polymérase et une hélicase dépendantes de l'ARN, ce qui aide à répliquer le génome viral dans les cellules hôtes. Pour le clivage de la protéine poly, deux enzymes protéases, dont la protéase de type 3-chymotrypsine (3CLpro) et la protéase de type papaine (PLpro), sont responsables, trouvées dans le SARS-CoV-2. Ainsi, les inhibiteurs de la protéase comme le lopinavir et le ritonavir réduisent le nombre de virus dans le système corporel de la personne infectée et l'aident à se rétablir. Dans une étude *in vitro*, il a été découvert que le lopinavir/ritonavir inhibait la protéase 3CLpro (**Liu et Wang, 2020 ; Liu et al., 2020**).

Dans une étude de recherche clinique portant sur un échantillon de 199 patients, les patients ont reçu du Lopinavir 400/Ritonavir 100 mg par voie orale, deux fois par jour. Il a été observé que le groupe qui était sous traitement liponavir/ritonavir s'est rétabli avec un temps de soins intensifs plus court que le groupe non traité, et que le taux de mortalité était également inférieur, bien qu'il ne soit pas statistiquement significatif.

La plupart des études cliniques qui entourent le lopinavir et le ritonavir ont une très petite taille d'échantillon, mais son traitement a été approuvé par le National Institute of Health (NIH) des États-Unis. L'utilisation de lopinavir/ritonavir n'est pas recommandée chez les patients souffrant de porphyrie, de problèmes cardiaques et de problèmes de conduction cardiaque. (**Karthik et al., 2021**).

D'autres effets secondaires sur l'utilisation sont la diarrhée, qui peut persister pendant une semaine après l'utilisation. Dans certains cas, le diabète sucré, la pancréatite et les problèmes hépatiques ont été signalés comme effets secondaires dus à l'administration de lopinavir/ritonavir (**Karthik et al., 2021**).

- L'autre catégorie de médicaments exploités est les médicaments interférant avec la réplication, la transcription et la traduction du matériel génomique du virus :

Le cycle de vie du virus dépend d'enzymes qui sont d'excellentes cibles des médicaments antiviraux. L'une des principales enzymes virales qui aident à la traduction et la réplication du virus est l'ARN polymérase dépendante de l'ARN. C'est la cible principale de nombreux médicaments nucléotidiques existants tels que :

Remdesivir, est susceptible d'inhiber l'ARN polymérase ARN-dépendante par une terminaison de chaîne d'ARN non obligatoire, un mécanisme qui nécessite la conversion du composé parent en la forme triphosphate active (**Poduri, 2020**).

Le remdesivir, développé par **Gilead Sciences. (2009)**, est un agent antiviral à large spectre portant le nom de marque « veklury » administré par injection intraveineuse. Il a été initialement conçu pour l'hépatite C (Hep C) et le virus respiratoire syncytial (VRS). Plus tard, il a été réutilisé contre les virus

Ebola et Marburg. Le remdesivir a une activité antivirale contre les filovirus, les pneumovirus, les paramyxovirus et les coronavirus *in vitro*. Etant un analogue du nucléotide, sous sa forme triphosphate, c'est-à-dire le remdesivir triphosphate (RDV-TP), est utilisé comme substrat pour l'ARN polymérase dépendante de l'ARN, et a signalé qu'il inhibe la synthèse de l'ARN viral par un retard de la synthèse (Wang et al., 2020) dans tous les virus corona, y compris le SRAS-CoV-2. On a vu que le RDV-TP ressemble à l'ATP (Adénosine triphosphate) Il entre en compétition avec la synthèse d'ARN viral, en formant une liaison phosphodiester avec le nucléotide suivant et met fin à la formation d'ARN viral au troisième site à partir du site de liaison RDV-TP, provoquant l'arrêt de la synthèse d'ARN viral dans le SRAS-CoV-2 (Karthik et al., 2021).

Le remdesivir a présenté une activité *in vitro* contre le SRAS-CoV-2 dans une étude préclinique utilisant le modèle *macaque rhésus* du SRAS-CoV-2, le traitement a été initié peu de temps après que le *macaque rhésus* ait été inoculé avec le SARS-CoV-2, et un groupe de *macaque rhésus* traités avec du remdesivir ont montré des niveaux de virus inférieurs à ceux non traités. La toxicité et les effets indésirables du remdesivir ne sont pas encore clairs et doivent faire l'objet d'études plus approfondies. Dans les essais cliniques, le remdesivir n'a pas montré de toxicité gastro-intestinale, à l'exception d'une diarrhée mineure dans quelques cas. En cas d'hépatotoxicité, des élévations des aminotransférases ont été observées. En cas de néphrotoxicité, après des doses continues de remdesivir, une fonction rénale réduite a été observée. En cas de toxicité respiratoire, un syndrome respiratoire aigu a été observé chez 4% des patients traités par remdesivir. La recommandation d'utilisation du remdesivir découle des essais multicentriques randomisés contrôlés par placebo et de l'essai de traitement adaptatif SARS-CoV-2 (ACTT) (Wang et al., 2020).

L'étude a été menée auprès de 1603 patients infectés par le SRAS-CoV-2. Les patients du groupe d'essai ont été touchés dans une mesure telle qu'ils ont besoin d'un supplément d'oxygène, mais la ventilation mécanique (ECMO) n'est pas nécessaire et la période de récupération de 10 à 15 jours a été observée. Il est actuellement approuvé pour le traitement aux États-Unis, en Inde, à Taïwan, à Singapour et dans de nombreux autres pays (Karthik et al., 2021).

Les Anti-inflammatoires et immunomodulateurs dans le contrôle des tempête de cytokines : L'invasion des cellules épithéliales alvéolaires riches en récepteurs ACE2 dans le poumon par le virus conduit à la stimulation exubérante du système immunitaire système, déclenchant une tempête de cytokines. Les cytokines sont des signaux chimiques molécules qui protègent essentiellement un système immunitaire sain. Ainsi, il devrait repousser l'attaque du virus aux stades initiaux avant le virus traverse la trachée et envahit les poumons et se met en mouvement la tempête de cytokines. Cet événement provoque

une pléthore d'effets tels que des dommages cardiovasculaires, une acidose métabolique, un dysfonctionnement de la coagulation, un choc septique et une défaillance multi viscérale(Poduri,2020).

La réponse inflammatoire au virus est excessive, entraînant l'apparition d'une tempête de cytokines avec une augmentation des cytokines induisant l'inflammation telles que IL-2, IL-6, IL-7, stimulant les colonies de granulocytes et le facteur de nécrose tumorale-T (TNF- α). La tempête de cytokines conduit également à une lymphohistiocytose hémophagocytaire secondaire (sHLH) et des lésions tissulaires. Grand nombre de médicaments approuvés pour d'autres maladies ayant des activités anti-inflammatoires et/ou immunomodulatrices ciblant les cytokines ont une justification pour fournir des prestations, et sont donc de raisonnables études sur le Covid-19(Poduri. 2020).

La chloroquine est un médicament antipaludéen développé en 1934. Plus tard en 1946, l'hydroxychloroquine (HCQ), un analogue de la chloroquine a été développé pour traiter les maladies auto-immunes. L'HCQ a été utilisé pour le traitement du lupus, de l'érythémateux, de la fièvre Q, de certains types de paludisme et de la polyarthrite rhumatoïde (**American Society of Health System Pharmacien 2020**). L'HCQ a des toxicités moins nombreuses et moins graves (y compris une propension moindre à allonger l'intervalle QTc) et moins d'interactions médicamenteuses que la chloroquine. Des études montrent que l'HCQ augmente la fusion inhibant le pH endosomal du SRAS-CoV-2 avec la membrane de la cellule hôte (**Wang et al., 2020**).

Ils possèdent un effet immunomodulateur et bloquent également le transport du SARS-CoV-2 des endosomes précoces aux endolysosomes, ce qui peut être nécessaire à la libération du génome viral (**Liu et al., 2020**).

La plupart des décès chez les patients atteints du SRAS-CoV-2 sont dus à des tempêtes de cytokines. Les cytokines jouent un rôle important dans les réponses immunitaires normales, mais la libération de grandes quantités dans le corps en une seule fois peut être nocive. Une tempête de cytokines peut survenir à la suite d'une infection, d'une maladie auto-immune ou d'autres maladies. Il est observé que HCQ peut réduire les tempêtes de cytokines .Une étude récente a rapporté que l'HCQ réduisait les symptômes cliniques grâce à des propriétés anti-inflammatoires et à la récupération de la lymphopénie. Mais la sécurité, les effets secondaires et l'efficacité de l'HCQ sont toujours à l'étude. De plus, les avantages et les risques associés à l'HCQ dépendent des antécédents médicaux du patient (**Karthik et al.,2021**).

La FDA a approuvé l'utilisation de 800 mg (HCQ) le premier jour, suivi de 400 mg pendant les sept jours suivants pour le traitement au COVID-19 (FDA des États-Unis - Fiche d'information sur l'hydroxychloroquinone pour les patients). Une dose plus élevée entraîne une arythmie et parfois la mort

.Les patients ayant des antécédents de troubles rénaux et hépatiques doit être traités avec précaution à l'aide de l'HCQ car cela entraîne une néphrotoxicité et une hépatotoxicité (**Karthik et al.,2021**).

Conclusion et perspectives

Depuis le début de la pandémie en décembre 2019 de nouvelles plates-formes utilisent de nouvelles technologies, telles que les vaccins à base de vecteurs viraux et d'acides nucléiques, bien qu'elles n'aient jamais servi à la conception des vaccins homologués jusqu'ici, ces technologies ont été utilisées pour élaborer certains des vaccins contre le SARS-CoV-2 qui sont rapidement passés aux essais cliniques. L'innocuité de ces vaccins potentiels devrait donc être évaluée avec soin. Pour ce faire, il faudra continuellement rester à l'affût des effets indésirables fréquents et des effets indésirables rares survenant chez un grand nombre de personnes vaccinées, tant au cours des essais cliniques qu'après la commercialisation des vaccins.

Chaque technologie vaccinale a ses propres avantages et inconvénients liés à sa capacité à induire certaines réponses immunitaires et à sa capacité de fabrication.

Étant donné la rapidité actuelle des processus de développement de vaccins contre le SARS-CoV-2, il faut accorder une attention particulière à leur évaluation après l'homologation. Le risque de facilitation de l'infection par des anticorps, notamment, devrait être étroitement surveillé dans les années suivant la vaccination.

À l'heure actuelle, pouvoir dire que la réponse des anticorps contre la protéine S peut durer longtemps ou pas est encore impossible. La meilleure estimation est de 6 à 8 mois, ce qui signifie que ces vaccins devront être administrés chaque année de la même manière que le vaccin antigrippal mais rien n'est encore sûr, le virus mute très rapidement il existe au moins 6 sous types principaux qui semblent se regrouper géographiquement.

Quelques vaccins récemment homologués pendant la pandémie semblent être efficaces tel que Moderna, AstraZeneca/Oxford, Pfizer/BioNTech, mais un point reste toujours sans réponse est si l'insertion d'ADN ou d'ARNM étranger dans le génome de l'hôte peuvent rendre la cellule cancéreuse ?

Bien qu'il semble peu probable qu'une seule technologie puisse apporter une solution à chaque situation d'épidémie future, la combinaison des connaissances actuelles, du développement en cours et de la compréhension croissante de l'immunologie humaine peut fournir des outils pour lutter avec succès contre les menaces mondiales émergentes.

Données bibliographiques

A

- **Ahmed R, Gray D. (1996)** .Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. *Science*: 272 (5258): 54–60.
- **Alameh MG, Weissman D, Pardi N.(2020)**. Messenger RNA-Based Vaccines Against Infectious Diseases. *Curr Top Microbiol Immunol*, Apr 17. doi: 10.1007/82_2020_202
- **Autran B, Launay O, Floret D. (2016)** .Vaccinations. *EMC Maladies infectieuses*;13:1—14 [Article 8-002-Q-10].

-B-

- **Baden LR, El Sahly HM, Essink B et al.(2021)**. Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med*, 384:403- 16.
- **Bartlett BL, Pellicane AJ et Tying SK. (2009)**. Immunologie vaccinale. *Thérapie dermatologique*, 22 (2): 104–109. doi: 10.1111 /j.1529-8019.2009.01223.x
- **Benedetti F, Snyder GA, Giovanetti M, Angeletti S, Gallo RC, Ciccozzi M, Zella D.(2020)**. Emerging of a SARS-CoV-2 viral strain with a deletion in nsp1. *J. Transl. Med.* 18 (11): 3e29.
- **Benfield T et Helweg-Larsen J. (2021)**. Département des maladies infectieuses, Université de Copenhague - Hôpital Amager et Hvidovre, 2) Département des maladies infectieuses, Université de Copenhague – Rigshospitalet Ugeskr Læger. 183: V01210052.

-C-

- **Canouï E et Launay O. (2018)**. Histoire et principes de la vaccination. *Revue Des Maladies Respiratoires*. CIC Cochin Pasteur, université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, hôpital Cochin, AP-HP, 75014 Paris, France, Inserm, CIC 1417, F-CRIN, I-REIVAC, 75014 Paris, France Vol 36 - N° 1(74-81) -Doi : 10.1016/j.rmr.2018.02.015
- **Cao WC, Liu W, Zhang PH, Zhang F, Richardus JH. (2007)**. Disappearance of antibodies to SARS-associated coronavirus after recovery. *N Engl J Med*, 357(11):1162–3.
- **Casadevall A. R, Sunshine G, Benjamini E.(2003)**. Resistance and immunization to infectious diseases. In: Coico eds. *Immunology: a short course*, 5th eds. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.,: 287–306.
- **Chung YH, Beiss V, Fiering SN et Steinmetz NF.(2020)**. Les pionniers du vaccin COVID-19 et leur conception nanotechnologique. *ACS Nano*, 14, 10, 12522–12537 <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c07197> Copyright © 2020 Société américaine de chimie

-D-

- **Diao B, Wang C, Tan Y, et al.(2020)**. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Front Immunol*, 11:827.
- **Delves PJ, Roitt IM.(2000)**. The immune system. First of two parts. *N Engl J Med* 343 (1): 37–49.

- **Drosten C, Gunther S, Preiser W, Van Der Werf S, Brodt HR, Becker S, Rabenau H, Panning M, Kolesnikova L, Fouchier RA, Berger A, Burguiere AM, Cinatl J, Eickmann M, Escriou N, Grywna K, Kramme S, Manuguerra JC, Muller S, Rickerts V, Sturmer M, Vieth S, Klenk HD, Osterhaus AD, Schmitz H, and Doerr HW.(2003).** Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med*, 348: 1967-1976.

-F-

- **Faure S.(2013).** Vaccins (1/2). *Actualités Pharmaceutiques*, vol 52 n°527(57-60) Faculté de pharmacie, Université d'Angers, 16 bd Daviers, 49045 Angers, France
Doi : 10.1016/j.actpha.2013.03.024
- **Fouchier RA, Kuiken T, Schutten M, Van Amerongen G, Van Doornum GJ, Van Den Hoogen BG, Peiris M, Lim W, Stohr K, and Osterhaus AD. (2003).** Aetiology: Koch's postulates fulfilled for SARS virus. *Nature*, 423-240.
- **Fuller DH, Berglund P.(2020).** Amplifying RNA Vaccine Development. *N Engl J Med*. 2020 Jun 18;382(25):2469-2471. doi: 10.1056/NEJMcibr2009737. PMID: 32558474.

-G-

- **Giovanetti M, Benedetti F, Campisi G, Ciccozzi A, Fabris S, Ceccarelli G, Ciccozzi M. (2020).** Modèles d'évolution du SRAS-CoV-2: aperçu de ses variantes génomiques. *Communications de recherche biochimique et biophysique*. doi: 10.1016 / j.bbrc.2020.10.102
- **Gray D, Siepmann K, Wohlleben G. (1994)** CD40 ligation in B cell activation, isotype switching and memory development. *Semin Immunol*: 6 (5): 303–310.
- **Guérin N.(2007).** Histoire de la vaccination: de l'empirisme aux vaccins recombinants. *La Revue de Médecine Interne*, 28(1) : 3–8. doi: 10.1016 / j.revmed.2006.09.024.

-H-

- **Harrison AG, Lin T, et Wang P. (2020).** Mécanismes de transmission et pathogenèse du SRAS-CoV-2. *Tendances en immunologie*, doi: 10.1016 / j.it.2020.10.004
- **Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al.(2020).** Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet (London England)*, 395: 497–506. doi: 10.1016/s0140-6736(20)30183-5

-I-

- **István T, Weissman D, and Pardi N, Sousa A. (ed.). (2021).** DNA Vaccines: Methods and Protocols, *Methods in Molecular Biology*, vol. 2197, https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0872-2_2, © Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature

-J-

- **Janice Oh HL, Ken-En Gan S, Bertoletti A, Tan YJ. (2012).** Understanding the T cell immune response in SARS coronavirus infection. *Emerg Microbes Infect*, 1(1):1–6.

- **Jauregui AR, Savalia D, Lowry VK, Farrell CM.** (2013). Wathélet, Identification of residues of SARS-CoV nsp1 that differentially affect inhibition of gene expression and antiviral signaling. *PloS One*, 29 (4): 62e416.

-K-

- **Karthik V, Poornima S, Hamed B, Vigneshwaran A, Dharun DR, Manikandan S, Subbaiya R, Krishnan A, Pandi B, Balakumar C, Selvaraj A, Muthupandian S.** (2021). Approches thérapeutiques émergentes pour lutter contre le COVID-19 : état actuel et perspectives futures *Mol. Biosci.* <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.604447>
- **Korber, B, Fischer, W., Gnanakaran, S, Yoon, H, Theiler, J, Abfalterer, W, Hengartner, N, Giorgi, E., Bhattacharya, T, Foley, B, Hastie, K., Parker, M., Partridge, D., Evans, C., Freeman, T., de Silva, T., McDanal, C, Perez, L., Tang, H, Moon-Walker, A, Whelan, S., LaBranche, C., Saphire, E., Montefiori, D.** (2020). on behalf of the Sheffield COVID-19 Genomics Group, Tracking changes in SARS-CoV-2 Spike: evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus, *Cell*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.043>.
- **Krammer, F.** (2020). Vaccins SARS-CoV-2 en cours de développement. *Nature* 586, 516-527 <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2798-3>

-L-

- **Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR.** (2020). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 55. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924>
- **Lalitha G.** (2021). Mutations de la protéine de pointe du SRAS CoV-2 humain. Protéines : structure, fonction et bioinformatique, vol : 89, n°5 (569-576) <https://doi.org/10.1002/prot.26042>: École de chimie, Université d'Hyderabad
- **Leclerc C.** (2007). L'apport des nouvelles technologies en vaccinologie. *Médecine/sciences*, 23(4): 386-390. doi: 10.1051/medsci/2007234386
- **Li F, Li W, Farzan M, and Harrison SC.** (2005). Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Sci. (N. Y. N.Y.)*, 309: 1864–1868. doi: 10.1126/science.1116480
- **Li F.** (2016). Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annu. Rev. Virol*, 3: 237–261. doi: 10.1146/annurev-virology-110615-042301
- **Li F, Li W, Farzan M, et al.** (2005). Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science*, 309(5742):1864–1868.
- **Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al.** (2003). Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*, 426: 450–454. doi: 10.1038/nature02145

- **Li YD, Chi WY, Su JH, Ferrall L, Hung CF et Wu TC.(2020).** Développement d'un vaccin contre le coronavirus: du SRAS et du MERS au COVID-19. *Journal of Biomedical Science*, 27 (1). doi: 10.1186 / s12929-020-00695-2
- **Lillie PJ, Samson A, Li A, et al. (2020).** Novel coronavirus disease (Covid-19): the first two patients in the UK with person to person transmission. *J Infect*, 80(5):578–606.
- **Liu CH, Huang HY, Tu YF, Lai WY, Wang CL, Sun JR, Chien Y, Lin TW, Lin YY, Chien CS, Huang CH, Chen YM, Huang PI, Wang FD, Yang YP.(2021)** Highlight of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 vaccine development against COVID-19 pandemic. *J Chin Med Assoc.*:84(1):9-13. doi: 10.1097/JCMA.0000000000000461. PMID: 33186212.
- **Lurie N, Saville M, Hatchett R, et al.(2020).** Developing Covid-19 vaccines at pandemic speed. *N Engl J Med*, 382(21):1969–1973.

-M-

- **Mei-Yue W, Rong Z, Li-Juan G, Xue-Fei G, De-Ping W and Ji-Min C. (2020).** Key Laboratory of Cellular Physiology at Shanxi Medical University, Ministry of Education, Key Laboratory of Cellular Physiology of Shanxi Province, and the Department of Physiology, Shanxi Medical University, Taiyuan, China.
- **Pachetti M. (2020).** Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA dependent-RNA polymerase variant. *J. Transl. Med*, 2(18): 1e79.

-P-

- **Peiris JS, Yuen KY, Osterhaus AD, and Stohr K.(2003).** The severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med*, 349 : 2431-2441.
- **Plotkin S.(2014).** Antécédents de vaccination. *Actes de l'Académie nationale des sciences*, 111 (34) : 12283-12287. doi: 10.1073 / pnas.1400472111.
- **Poduri R, Joshi G, et Jagadeesh G.(2020).** Médicaments ciblant différentes étapes du cycle de vie du SRAS-CoV-2 : Exploration de médicaments prometteurs pour le traitement de Covid-19. *Signalisation cellulaire*, 109721. doi:10.1016/j.cellsig.2020.109721

-Q-

- **Qiu M, Shi Y, Guo Z, et al.(2005).** Antibody responses to individual proteins of SARS coronavirus and their neutralization activities. *Microbes Infect*, 7(5–6):882–889.

-R-

- **Rauch S, Jasny E, Schmidt KE et Petsch B. (2018).** Nouvelles technologies vaccinales pour lutter contre les situations d'épidémie. *Frontiers in Immunology*, 9. doi: 10.3389 / fimmu.2018.01963

- **Reperant LA, and Osterhaus A.(2017).** AIDS, Avianflu, SARS, MERS, Ebola, Zika... whatnext?Vaccine. 35, 4470-4474.

-S-

- **Sahin U, Karikó K, Türeci Ö. (2014).**mRNA-basedtherapeutics—developing a new class of drugs. *Nat Rev Drug Discov*, 13(10):759-80. doi: 10.1038/nrd4278
- **Scialo, F., Daniele, A., Amato, F. et al. (2020).**ACE2 : le récepteur d'entrée cellulaire majeur pour le SRAS-CoV-2. *Poumon* 198, 867-877 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00408-020-00408-4>
- **Sigrist, C., Bridge, A., & Le Mercier, P. (2020).** Un rôle potentiel des intégrines dans l'entrée de la cellule hôte par le SARS-CoV-2. *Recherche antivirale*, 104759. doi:10.1016/j.antiviral.2020.104759.
- **Silveira MM, Moreira GMSG, &MendonçaM. (2020).** Vaccins à ADN contre le COVID-19 : Perspectives et enjeux. *Sciences de la vie*, 118919. doi:10.1016/j.lfs.2020.118919
- **Soleimanpour S&Atieh Y. (2021).** COVID-19 vaccine:where are wenow and whereshouldwe go?, *Expert Review of Vaccines*, 20(1):23-44, DOI:10.1080/14760584.2021.1875824
- **Sultana J, Mazzaglia G, Luxi N, Cancellieri A, Capuano A, Ferrajolo C, de Waure C, Ferlazzo G, Trifirò G.(2020)**Potentialeffects of vaccinations on the prevention of COVID-19: rationale, cliniquevidence, risks, and public healthconsiderations. *Expert Rev Vaccines*.Oct;19(10):919-936. doi: 10.1080/14760584.2020.1825951. Epub 2020 Oct 6. PMID: 32940090.
- **Sumirtanurdin R, &Barliana MI. (2020).** Développement d'un vaccin contre la maladie à coronavirus 2019 : un aperçu. *Immunologie virale*,doi: 10.1089/vim.2020.0119

-T-

- **Tan YJ, Goh PY, Fielding BC, et al. (2004).**Profiles of antibodyresponsesagainstsevere acute respiratory syndrome coronavirus recombinant proteins and theirpotential use as diagnostic markers. *Clin DiagnLabImmunol*, 11(2): 362–371.
- **Thevarajan I, Nguyen TH, Koutsakos M, et al. (2020).**Breadth of concomitantimmune responsesprior to patient recovery: a case report of non-severe COVID-19. *Nat Med*, 26(4):453–455. .

-V-

- **V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, et Thiel V. (2020).** Biologie et réplication des coronavirus: implications pour le SRAS-CoV-2. *Nature ReviewsMicrobiology*,doi: 10.1038 / s41579-020-00468-6

-W-

- **Wallis J, Shenton DP et Carlisle RC.(2019).** Nouvelles approches pour la conception, la livraison et l'administration des technologies vaccinales. *Immunologie clinique et expérimentale*, doi: 10.1111 / cei.13287

- **Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, and Veerler D. (2020).** Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, 181: 281–292.e286. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.058
- **Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et al.(2020).** Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Sci. (N. Y. N.Y.)*, 367: 1260–1263. doi: 10.1126/science.abb2507
- **Wu LP, Wang NC, Chang YH, Tian XY, Na DY, Zhang LY, Zheng L, Lan T, Wang LF. (2007).** Liang GD. Duration of antibody responses after severe acute respiratory syndrome. *Emerg Infect Dis*, 13(10):1562–4.

-X-

- **Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. (2020).** Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*, 8(4):420–422.

-Y-

- **Yoo JH.(2021)** Ce que nous savons et ne savons pas encore sur les vaccins COVID-19 au début de l'année 2021 . *J Coréen Med Sci*. Fév 2021;36(6):e54. <https://doi.org/10.3346/jkms.2021.36.e54>

-Z-

- **Zepp F. (2016).** Principes de la vaccination. *Methods in Molecular Biology*, 57–84.
- **Zhang L, Jackson CB, Mou H, Ojha A, Rangarajan ES, Izard T, Farzan M, Choe H. (2020).** The D614G mutation in the SARS-CoV-2 spike protein reduces S1 shedding and increases infectivity. *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2020.06.12.148726>
- **Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. (2020).** A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579: 270–273. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7
- **Zhou Y, Fu B, Zheng X, et al.(2020).** Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe COVID-19 patients. *Natl Sci Rev*,