



TLEMCEEN N°D'ORDRE



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE DE TLEMCEEN- ABOU BEKR BELKAID
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de biologie
Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie – BIOMOLIM W0414100

MÉMOIRE

Présenté par

TRAORE SARATA NASSOUN

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Immunologie

Intitulé :

PIEGE/TRAP-MPO MONOCYTAIRE FACE A SRAS-COV-2

_____ ***Sous la direction du Professeur Mourad ARIBI*** _____

Soutenu le 14/07/2021

Jury :

**Pr. SMAHI
Mohammed Chems
Eddine**

Professeur

Université de
Tlemcen, Algérie

Président

Pr. ARIBI Mourad

Professeur

Université de
Tlemcen, Algérie

Encadreur

Dr. NOUARI Wafaa

Maitre de conférences
B

Université de
Tlemcen, Algérie

Examinatrice

Résumé

Résumé

Introduction : Le SRAS-CoV-2 est un bêta-coronavirus responsable de la pandémie à Covid-19. Les monocytes faisant parties des cellules clés du système inné contribuent ainsi dans sa pathogénèse. Par ailleurs, nouvellement comme mécanisme chez les monocytes, ils présentent des changements à long terme au cours de l'infection par expression de *Traps*/pièges extracellulaires ou ADN extracellulaires comme dernière ligne de défense.

Objectif : Ce projet de Mémoire repose donc, sur L'essai d'évaluation du niveau d'expression des *Traps*/pièges des MO qui pourraient être générés comme résultat lors de la seconde infection du SRAS-CoV-2.

Matériels et Méthodes : Les monocytes ont été isolés à partir de cellules mononuclées du sang périphérique (PBMCs) de donneurs volontaires sains par l'adhérence en plastique. Ces derniers ont été mis en contact deux(2) fois avec le virus atténué in vitro afin de doser l'activité de la myéloperoxydase associée à l'étose.

Mots clé : Covid-19, Monocytes, SRAS-CoV-2, Traps/Pièges extracellulaires monocytaires.

Abstract

Background: SARS-CoV-2 is a beta-coronavirus responsible for the Covid-19 pandemic. Monocytes, which are part of the key cells of the innate system, thus contribute to its pathogenesis. Moreover, as a new mechanism in monocytes, they exhibit long-term changes during infection through expression of extracellular traps / traps or extracellular DNA as a last line of defense.

Objective: This thesis project is therefore based on the assay to assess the level of expression of Extracellular Traps of Mo that could be generated as a result of the second infection of SARS-CoV-2.

Material and Methods : Monocytes were isolated from peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of healthy volunteer donors by the plastic adhesion. The latter were brought into contact twice (2) with the attenuated virus in vitro in order to measure the activity of the myeloperoxidase associated with etose.

Keywords: Covid-19, Monocytes, SRAS-CoV-2, Extracellular Trap of Monocytes.

مقدمة: SARS-CoV-2 هو أحد الفيروسات التاجية بيتا المسؤولة عن جائحة جزء Covid-19، وبالتالي تساهم الخلايا الأحادية، وهي خلايا أساسية في الجهاز الفطري، في إحداث المرض. علاوة على ذلك، كآلية جديدة في الخلايا الأحادية، فإنها تظهر تغيرات طويلة المدى أثناء الإصابة بالتعبير عن Traps/pièges خارج الخلية أو الحمض النووي خارج الخلية كخط دفاع أخير.

الهدف: يعتمد مشروع الأطروحة هذا على الفحص لتقييم مستوى التعبير عن Traps/pièges monocytes التي يمكن إنشاؤها نتيجة للعدوى الثانية لـ SARS-CoV-2.

المواد والطرق: تم عزل وحيدات من خلايا الدم وحيدة النواة (PBMCs) للمتبرعين المتطوعين الأصحاء عن طريق الالتصاق البلاستيكي. تم وضع الأخير على اتصال مرتين (2) مع الفيروس الموهن في المختبر من أجل قياس نشاط إنزيم ميلوبيروكسيديز المرتبط بـ etose.

الكلمات المفتاحية: Covid-19، Monocytes، SARS-CoV-2، Traps/pièges monocytes خارج الخلية.

Dédicace

A mon brave et généreux père Mr. Souleymane Traoré, un magnifique homme qui m'a toujours soutenu dans mes entreprises tout en m'accordant toute sa confiance.

A ma belle, douce et tendre mère Mme. Traoré Oumou Konaté, une femme exceptionnelle.

A mes très chers frères (Modibo, Mohamed) et sœurs (Bahini, Lobo, Mama jolie, Adja) ainsi qu'à ma petite nièce (La vieille) et toute la famille KONATE et TRAORE

A Ousmane Samaké

A mon grand-père Hadi Traoré qu'Allah lui fasse Miséricordes.

A mes fidèles amis du monde entier

A Christ Herbert KOFFI

A mon professeur, Monsieur ARIBI Mourad, un modèle.

A mon chaleureux pays le MALI

A ce beau pays, l'Algérie qui m'a accueilli tendrement tout en m'offrant cette chance d'étudier.

A tous mes camarades et à toute la communauté malienne et étrangère en Algérie.

(Traoré Sarata Nassoun)

Remerciements

Premièrement je remercie Allah le tout Puissant de m'avoir donné cette force et toute cette patience d'arrivée à bout pour ce projet de fin d'étude.

Je lance toute ma reconnaissance à Mr. ARIBI Mourad de m'avoir orienté et guidé tout le long de ce travail. Sa présence, ses conseils et remarques constructifs furent pour moi précieux dans la réalisation de ce travail.

Mes remerciements au président du jury de l'Université de Tlemcen d'avoir accepté de présider ce jury.

Mes remerciements également à Mme Nouari Wafaa de l'Université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail et d'avoir contribué à mon éducation durant mon cursus universitaire.

Mes sincères remerciements à Mme MILIANI Maroua, pour sa disponibilité et son soutien durant tout le processus de ce projet ainsi que durant ses deux années de Masters.

Mes plus profondes gratitude pour le Laboratoire de Biologie Moléculaires et d'Immunologie appliquée ainsi qu'à toute l'équipe.

Mes remerciements à MIDOUN Ahmed pour tous ses efforts à mon égard.

Je remercie mes parents, frères et sœurs pour leurs incommensurables aides, soutient et patience.

A tous mes proches, amis, à l'ensemble de nos professeurs, je dis merci d'avoir contribué à mon éducation.

Table des matières

PIEGE/TRAP-MPO MONOCYTAIRE FACE A SRAS-COV-2	1
Résumé	2
Dédicace	5
Remerciements	6
Liste des abréviations	9
Liste des figures	12
Liste des tableaux	13
Introduction	14
Chapitre 1. Revue de la littérature	15
I. Covid-19.....	15
1. Généralité.....	15
2. SRAS-CoV-2.....	15
A. Classification.....	15
B. Origine.....	15
C. Structure et pathogénèse du SRAS-CoV-2.....	16
a. Enzyme de conversion de l'angiotensine 2/ <i>ACE2</i>	18
b. Entrée du SRAS-CoV-2 et protéases de la cellule hôte.....	18
3. Caractéristiques épidémiologiques de la Covid-19.....	20
A. Cas de l'Algérie.....	20
4. Aspect thérapeutique de la Covid-19 en Algérie.....	21
II. Covid-19 et l'immunité innée.....	21
1. Monocyte.....	21
A. Historique.....	21
B. Classification.....	22
C. Rôle des monocytes.....	25
D. Différenciation.....	25
2. Monocytes : Rôles dans la Covid-19.....	26
A. Stade précoce dans la pathogénèse du SRAS-COV-2.....	26
B. Infection des monocytes par le SRAS-COV-2.....	26
III. Notion de Piège monocytaires (MoET).....	28
1. Généralité.....	28
2. Mécanismes de formation d'ETose ou "ETosis".....	30
Problématique.....	31
Chapitre 2. Matériels et Méthodes	33
I. Déclaration éthique.....	33

II.	Isolation des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC)	33
III.	Isolation des Monocytes (MO)	33
IV.	Dosage de l'activité de la myéloperoxydase associée à l'étose	34
	Chapitre3. Résultat et Discussion	35
	Chapitre 4. Conclusions et Perspectives	38
	Chapitre 5. Bibliographie	39

Liste des abréviations

<i>ACE2</i>	Enzyme de conversion de l'angiotensine 2
ADN	Acide désoxyribonucléique
<i>ARDS</i>	Syndrome de détresse respiratoire aiguë
ARN	Acide ribonucléique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
CCL	Cystéine-Cystéine-Ligand
CD	Clusters de différenciation
CCR	Cystéine-Cystéine-Récepteur
<i>CDC</i>	<i>Centers for Disease Control</i>
<i>CLD</i>	Domaine de type collectrice C-terminal
<i>CMP</i>	<i>Common myeloid progenitors</i>
CO ₂	Gaz carboxylique
CoV	Coronavirus
COVID-19	Coronavirus 2019
CPA	Cellule présentatrice d'antigène
CRS	Syndrome de libération de cytokines
CX3CL	Cystéine-trois acides aminés quelconque-cystéine-Ligand
CX3CR	Cystéine-trois acides aminés quelconque-cystéine-Récepteur
EDTA	Acide éthylènediaminotétracétique
EM	Microscope électronique
<i>Ets</i>	<i>Extracellular Traps</i>
<i>FCS</i>	Sérum de vœu fœtal
<i>GSDMD</i>	<i>Gasdermine D</i>
<i>GM-CSF</i>	Facteur de stimulation des colonies de macrophages granulocytes
<i>GMP</i>	<i>Granulocyte-macrophage progenitors</i>
<i>HSC</i>	Cellules souches hématopoïétiques/ <i>Hematopoietic stem cells</i>
IFN	Interféron
IL	Interleukine
<i>IRF8</i>	<i>Interferon regulatory factors</i>
<i>ISG</i>	<i>Interferon-stimulated genes</i>
<i>KLF4</i>	<i>Krüppel-like factor-4</i>
MCD169	Monocytes circulants à récepteur CD169

<i>MCP-1</i>	<i>Monocytes Chemoattractant protein 1</i>
<i>MDP</i>	<i>Macrophage-dendritic cells progenitors</i>
<i>MERS-CoV</i>	<i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
<i>MO</i>	Monocyte
<i>MoET</i>	<i>Monocytes extracellular Trap</i>
<i>NCov</i>	Nouveau coronavirus
<i>NET</i>	<i>Neutrophil Extracellular Trap</i>
<i>NK</i>	<i>Natural Killer</i>
<i>NLRP3</i>	Domaine de la pyrine de la famille NLR contenant 3
<i>NTD</i>	Domaine N-terminal
<i>OMS</i>	Organisation Mondiale de la Santé
<i>PAMPs</i>	<i>Pathogen-associated molecular patterns</i>
<i>PD</i>	Domaine peptidase N-terminal
<i>PBMC</i>	Cellules mononuclées du sang périphérique
<i>PBS</i>	<i>Phosphate-buffered saline</i>
<i>PAD4</i>	Peptidylarginine déiminase de type IV
<i>PU.1</i>	<i>Purine-rich box-1</i>
<i>Raf-MEK-ERK</i>	<i>Mitogen-activated protein kinase, kinase régulée extracellulaire</i>
<i>RBD</i>	Domaine de liaison au récepteur
<i>Ro</i>	Basic reproduction number
<i>MROS</i>	<i>Mitochondrial Reactive Oxygen species</i>
<i>ROS</i>	<i>Reactive Oxygen species</i>
<i>RPMI-1640</i>	<i>Roswell Park Memorial Institute,</i>
<i>SRA</i>	Système rénine-angiotensine
<i>SRAS-CoV-1</i>	Syndrome respiratoire aigu sévère 1
<i>SRAS-CoV-2</i>	Syndrome respiratoire aigu sévère 2
<i>TBET</i>	Test d'exclusion au bleu Trypan
<i>TLR</i>	<i>Toll-like receptors</i>

TMPRSS2 Sérine protéase transmembranaire 2

TNF *Tumor Necrosis Factor*

Liste des figures

Figure1.1 Représentation schématique de Génome de SRAS-CoV-2 (Kim et al., 2020)

Figure1.2 Structure générale du SRAS-COV-2 (Mahmoud et al., 2020).

Figure1.3 Voies d'entrée du virus SARS-CoV-2 dans les cellules cibles (Mahmoud et al., 2020)

Figure1.4 Répartition des taux d'indice par wilaya d'Octobre 2020 (Derkaoui et al., 2021).

Figure1.5 Voie de développement des monocytes (Terry and Miller, 2014) dans la Thèse (Nouari, W. 2016).

Figure1.6 Sous-population de monocytes humains (Patel & Yona 2019).

Figure1.7 Mécanismes de déclenchement de cytokine Storm (Pedersen & Ho 2020).

Figure1.8 Processus de formation du piège extracellulaire des neutrophiles (NET) (Sorvillo et al., 2019).

Liste des tableaux

Tableau1.1 Sous-ensemble regroupés de monocytes Humains et Murins (Italiani & Boraschi 2014 ; Wang et al., 2020)

Introduction

Le SRAS-CoV-2 (coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère) a provoqué une épidémie de coronavirus 2019 (COVID-19) (Guan et al., 2020 ; Zhu et al., 2019) reconnue pour la première fois en décembre 2019, elle a été déclarée pandémique par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) le 11 mars 2020, suite à son augmentation remarquable de la morbidité et de la mortalité dans le monde entier. (Hottz et al., 2020). Des études histopathologies ont révélé que le virus se propage dans de nombreux organes en raison de l'engagement efficace de la protéine de pointe(Spike) du virus avec le récepteur humain omniprésent ACE2. (Quartuccio et al., 2021)

Les monocytes sont l'une des cellules clés dans de nombreux contextes pathologiques, mononuclées circulantes et très hétérogènes du système immunitaire innée ; ces cellules sont responsable de la phagocytose et possèdent d'importante plasticité. En réponse aux stimulations environnementales, elles sont capable de se différencier en macrophages et cellules dendritiques (DC) (Auffray et al., 2009) et se diviser en monocytes classiques ou inflammatoires (CD14++CD16-), intermédiaire (CD14++CD16+) et non-classiques ou patrolling (CD14+CD16++) (Yang et al., 2014 ; Wang et al., 2020).Ce pendant avec leur large éventail d'activités défensives antimicrobiens contre des agents pathogènes tels que les virus, il a été établi qu'ils exercent des effets de surproductions des cytokines et chimiokines pro-inflammatoires (Pence 2021) dans la pathogénèse de la Covid-19. (Meidaninikjeh et al., 2021)

Par ailleurs, la libération des pièges extracellulaires/ET récemment découverte chez les monocytes/MoET a été reconnue comme un nouveau mécanisme d'immunité innée précoce de l'hôte en réponse à des agents infectieux invasifs (tels que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albican*) (Brinkmann et al. 2004) tout en évitant leur dissémination dans les tissus (Fuchs et al., 2012).

Ainsi ce projet de Mémoire repose sur L'essai d'évaluation du niveau d'expression des *Traps* ou pièges des MO qui pourraient être générés comme résultat lors de la seconde infection du SRAS-CoV-2.

Dont le but étant que nous montrons en parallèle que le SRAS-CoV-2 a la capacité d'induire la libération des TRAPS/PIEGES par le monocyte au cours de son infection.

Chapitre 1. Revue de la littérature

I. Covid-19

1. Généralité

Durant la fin décembre 2019, une épidémie d'infection par le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2) est survenue à Wuhan, dans la province du Hubei, en Chine, et s'est propagée dans tout le pays ainsi qu'au-delà. Le 12 février 2020, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a officiellement nommé la maladie causée par le nouveau coronavirus (nCoV) comme la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) (Zu *et al.*, 2020). Elle est également nommée pneumonie grave avec de nouveaux agents pathogènes le 15 janvier 2020 par le centre de contrôle des maladies (CDC) de Taiwan, le ministère de la santé (Wu *et al.*, 2020). Par ce fait la Covid19 se trouve considérer comme étant la dernière maladie infectieuse à se développer rapidement dans le monde. (Spagnuolo *et al.*, 2020).

2. SRAS-CoV-2

Le SRAS-CoV-2 est un genre à virions sphériques, enveloppé et à acide ribonucléique (ARN) monocaténaire (26 à 32kb) (Li *et al.*, 2020), de sens positif ; qui doit son nom à son aspect de couronne solaire après observation sous microscope électronique (EM) suite à la présence des pointes de surface (Spike) ou glycoprotéines ; de 9 à 12 nm de long et ayant 60-140 nm de diamètre au niveau de la structure virale. (Wei *et al.*, 2020)

A. Classification

Le SRAS-CoV-2 comme virus est de l'ordre Nidovirales et constitue l'un des membres de la famille Coronaviridae : Coronavirinae. Le séquençage génomique complet ainsi que l'analyse phylogénique ont défini que le nouveau coronavirus est un bêtacoronavirus appartenant au même sous-genre que le virus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-1) ainsi que d'autres CoV de chauve-souris mais à un clade différent. (Ren *et al.*, 2020).

B. Origine

Historiquement les coronavirus sont d'important pathogènes tant animal qu'humain et il semble que le coronavirus 2 du SRAS pourrait être initialement hébergé par des chauves-souris et avoir été transmis à l'homme probablement par le biais du pangolin ou d'autres animaux sauvages vendus sur le marché des

fruits de mer de Wuhan, mais qu'il se soit ensuite propagé par transmission interhumaine soit celle-ci par contact direct ou indirect ou par inhalation de gouttelettes respiratoires, qui en sont mondialement les principaux mode de propagation de la dite maladie. (Andersen et al., 2020)

C. Structure et pathogénèse du SRAS-CoV-2

Sur le plan structurel et phylogénétique, le SARS-CoV-2 est similaire au SARS-CoV-1 ($\geq 70\%$) et au MERS-CoV et se constitue principalement de quatre(4) glycoprotéines structurales : la glycoprotéine de surface en point ou Spike (S), la glycoprotéine d'enveloppe (E), la nucléocapside (N) et celle au niveau membranaire (M) (Figure1.2) ainsi qu'une large poly-protéine non-structurale (ORF1a et b qui se transloque en deux(2) pour ensuite se cliver en seize(16) protéines non-structurales/NSP) qui sont essentielles à la réplication du virus et 5 protéines accessoires (ORF3a, ORF6, ORF7, ORF8 et ORF9) (Figure1.1). (Arunachalam et al., 2020 ; Jia et al., 2005)

- Les glycoprotéines E, M et N jouent une fonction dans l'assemblage, la réplication et la libération des particules virales. (Simmons et al., 2013)
- La glycoprotéine Spike (S), qui lui confère son apparence couronné au SRAS-CoV-2 et la plus importante des glycoprotéines, est située sur la surface externe du virion et subit un clivage en une sous-unité S1 amino-terminale, qui permet l'incorporation du virus dans la cellule hôte, et une sous-unité S2 carboxy-terminale contenant un domaine transmembranaire et un domaine cytoplasmique, qui est responsable de la fusion virus-membrane cellulaire. (Du et al., 2009) (Figure1.2)

La sous-unité S1 est en outre divisée en un domaine de liaison au récepteur/*RBD* et un domaine N-terminal/*NTD*, qui facilite l'entrée du virus dans la cellule hôte et sert de cible potentielle pour la neutralisation en réponse aux antisérums ou aux vaccins (Song et al. 2018). Le *RBD* est un domaine peptidique fondamental dans la pathogénèse de l'infection car il représente un site de liaison pour les récepteurs humains de l'*ACE2*. (De Abajo et al., 2020)

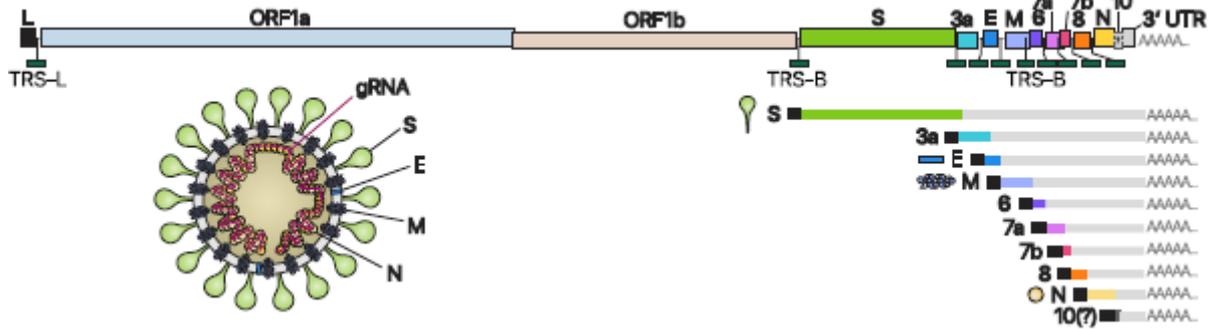


Figure1.1 Représentation schématique de Génome de SRAS-CoV-2, adapté d'après (Kim et al., 2020)

On a l'ARNm (ARN messenger) ou ARN génomique, les ORF1aetORF1b traduits. A l'ARN génomique s'ajoute neuf(9) ARN sous-génomique dont des protéines accessoires agrandit pour une nette visualisation. La boîte noire montre la séquence leader.

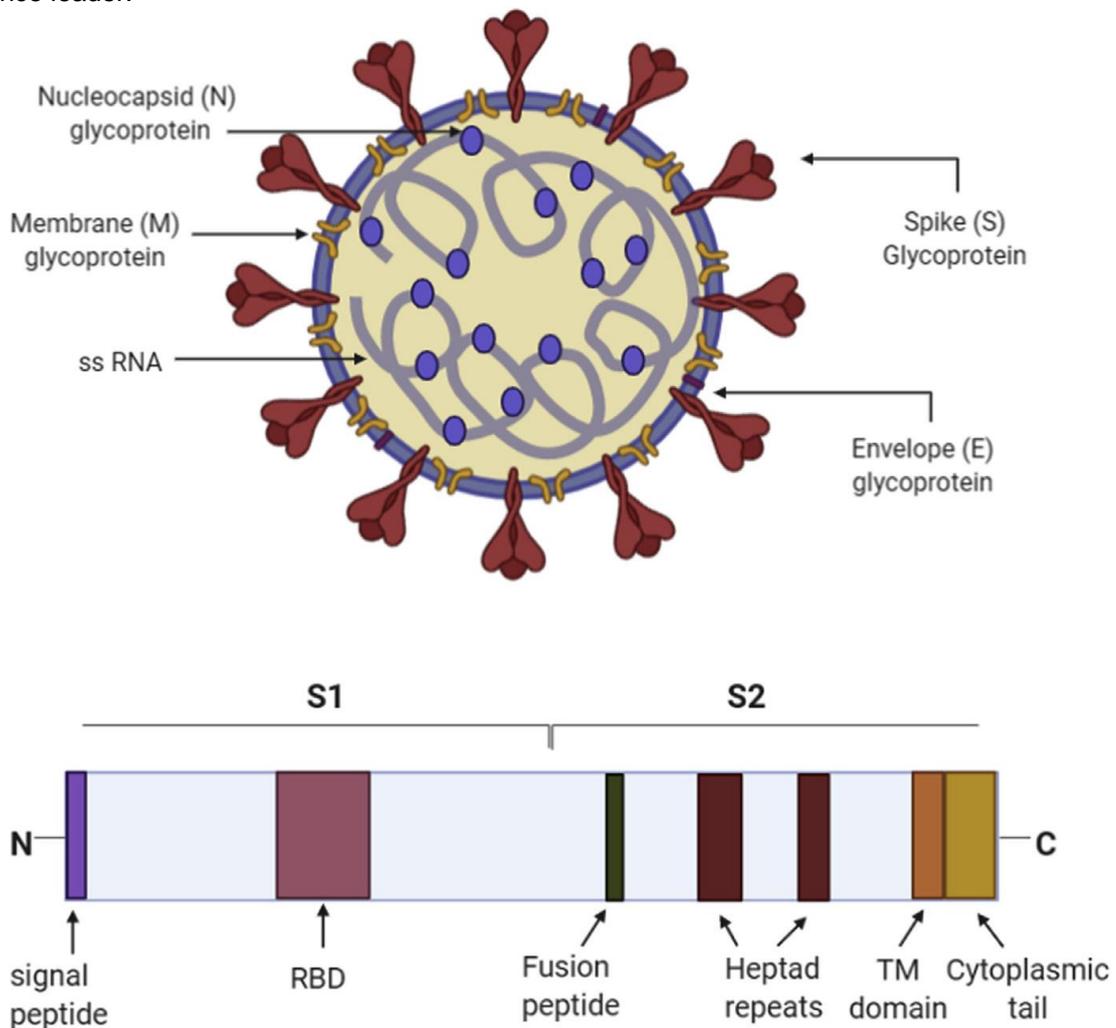


Figure1.2 Structure générale du SRAS-COV-2 (Mahmoud et al., 2020)

-La structure du virion SRAS-CoV-2 et ses principales glycoprotéines structurales. - Carte linéaire de l'organisation des domaines de la glycoprotéine de pointe S : les sous unités S1 de l'extrémité N-terminale ont des domaines de liaison au récepteur/RBD nécessaire à la liaison du virus à l'ACE2. S2, l'extrémité C-terminale regroupe les éléments nécessaires à la fusion. Il est doté aussi d'un domaine transmembranaire™ servant d'ancrage à la membrane et une queue cytoplasmique pour un Trafic approprié intracellulaire.

a. Enzyme de conversion de l'angiotensine 2/ACE2

ACE2 est une glycoprotéine membranaire de type I exprimée par de l'épithélium respiratoire mais aussi par d'autres organes tels que l'œsophage supérieur, les entérocytes de l'iléon, les cellules du myocarde, les cellules tubulaires proximales du rein et les cellules urothéliales de la vessie (*Xu et al., 2020*). Elle se compose d'un domaine peptidase N-terminal/*PD* et d'un domaine de type collectrice C-terminal/*CLD* suivis d'une hélice transmembranaire et d'un segment intracellulaire d'environ 40 résidus.

De surcroît elle est dotée d'une activité catalytique ayant un rôle crucial dans la régulation du système rénine-angiotensine (SRA) qui est une voie de signalisation qui agit comme un régulateur homéostatique de la fonction vasculaire. (*Tikellis & Thomas 2012*)

Enfin, de son point de vue biochimique, l'ACE2 permet la dégradation de l'angiotensine II et agissant comme un puissant vaso-constricteur par le biais de son récepteur de l'angiotensine II de type I /AT1R, ce qui va ainsi entraîner la formation de l'angiotensine 1-7, qui s'opposera à l'action de l'angiotensine II. (*Clarke & Turner 2012*)

b. Entrée du SRAS-CoV-2 et protéases de la cellule hôte

Le mécanisme d'infection du SRAS-CoV-2 se constitue en deux(2) étapes successives,

Etape1 :

Le SRAS-CoV-2 pénètre dans les cellules de l'hôte en liant son pic ou sa protéine S (S1) aux récepteurs ACE2 présents en abondance sur les épithéliums respiratoires tels que les cellules épithéliales alvéolaires de type II par le biais de l'activité enzymatique de la cathepsine L des cellules à récepteurs ACE2. (*Huang et al., 2006*)

Etape2 :

Le processus d'attachement viral est suivi par l'amorçage de la sous-unité S2 de la protéine Spike par la sérine protéase transmembranaire 2 (TMPRSS2) de l'hôte qui facilite l'entrée dans la cellule et l'endocytose ultérieure de la réplication. (*Hoffmann et al., 2020*)

Par conséquent, cette liaison du coronavirus aux récepteurs ACE2 entraîne le détournement de la fonction cellulaire par lequel il peut former de nombreuses nouvelles cellules virales. Par réplication, transcription et traduction, les nouveaux virus s'assemblent et sont libérés par exocytose. Le virus libéré endommage l'ADN de la cellule hôte et provoque la libération de molécules toxiques ce qui va ainsi affecter le système immunitaire. (*Chauhan et al., 2021*) (Figure1.3)

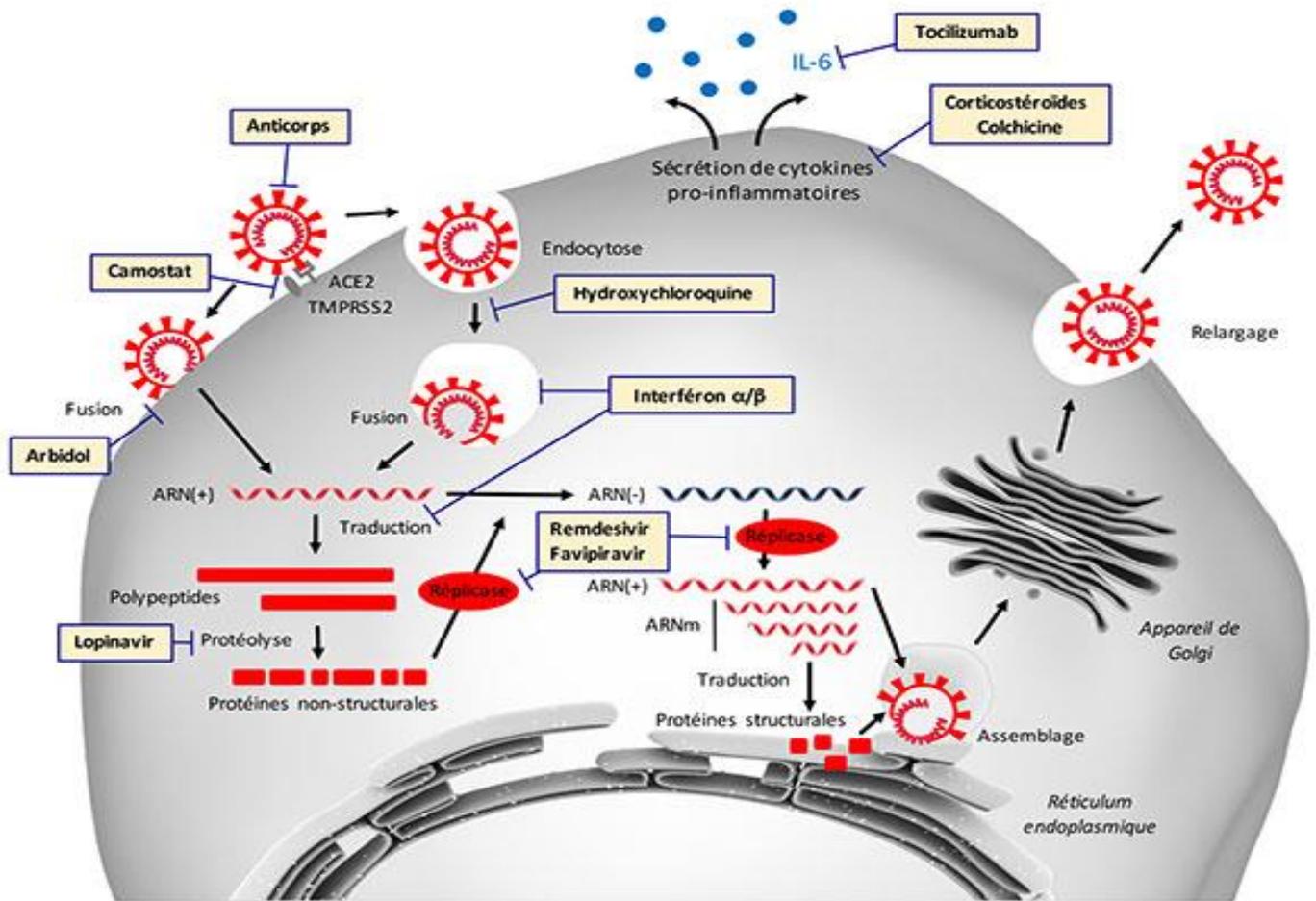


Figure1.3 Cycle de réplication du SRAS-CoV-2 avec les différentes molécules et leurs cibles en cours d'évaluation pour traiter la COVID-19. (Anne Gatignol 2020)

Le SRAS-CoV-2 se lie, via la protéine S (pour Spike), au récepteur ACE2 exprimé à la surface des cellules-cibles, et pénètre ensuite par endocytose ou par fusion directe à la membrane plasmique. La sérine protéase TMPRSS2 est également impliquée dans l'étape d'entrée du virus, en permettant l'amorçage de la protéine S. Après libération de l'ARN génomique dans le cytoplasme, celui-ci est traduit en polypeptides, qui, clivés par la protéase virale, permettent de générer les protéines non-structurales, qui forment le complexe de réplication/transcription (réplicase). L'ARN génomique à polarité positive (+) est alors transcrit en ARN viral complémentaire à polarité négative (-), qui sert de matrice à la synthèse d'ARN génomique et sous-génomiques, traduits en protéines structurales. L'ARN génomique et les protéines structurales vont alors s'assembler dans le réticulum endoplasmique. Les virus néoformés sont alors transportés via des vésicules de transport vers l'appareil de Golgi puis vers la surface cellulaire, où ils sont libérés. Les inhibiteurs potentiels du SRAS-CoV-2 et leurs cibles connues ou prédites sont indiqués par des rectangles aux différentes étapes du cycle viral.

3. Caractéristiques épidémiologiques de la Covid-19

Récemment en date du 6 Mai 2021, il est reporté que depuis l'apparition du premier cas à Huanan seafood market ; la Covid-19 s'est propagée dans plus de 210 pays tout en affectant un nombre de 155,665,214 personnes avec une mortalité de 3,250,648 personnes à travers le monde entier. De ce fait, toute la population est généralement susceptible d'être infectée par le SRAS-CoV-19 ; notamment les personnes les plus âgées, les immuno - déficients, les femmes enceintes et les nouveau-nés sont confrontés à la sévérité de la maladie (*Huang et al., 2006*).l' incubation du SRAS-CoV-2 peut aller au bout de 3-5jours allant jusqu'à 14jours et son basic reproduction number/Ro est de 1,4-6,49 avec une moyenne de 3,28. Quant aux manifestations clinique : fatigue, fièvre, toux sèche, myalgie et dyspnée, congestion nasale, écoulement nasal, maux de tête, mal de gorge, vomissement et diarrhée ; hypoxémie, choc septique, acute respiratory distress syndrome /ARDS pour le cas sévère. (*Li et al., 2020 ; Zhou et al., 2020*)

A. Cas de l'Algérie

L'Algérie étant le quatrième pays d'Afrique le plus touché par la COVID-19 ; selon les rapports du 1 d'octobre 2020, la région sanitaire du centre avait enregistré des taux d'incidence accru (132,64 pour 100 000 habitants), ainsi qu'à l'Est, Sud et l'Ouest avec des taux d'incidence respectifs de 119,64, 119,53 et 105,17 pour 100 000 habitants (*OMS, 2020*). Les wilayas d'Oran, de Tindouf et d'Annaba avaient eu des taux d'incidence cumulés de plus de 200 cas pour 100 000 habitants (Figure1.4) (*INSP, 2020*).Durant ce temps 1 741 décès cumulés ont été enregistrés, avec un taux de létalité de 3,37% (*INSP, 2020/ 1er octobre*).Récemment il a été montré une stabilité et un contrôle de la covid-19 sur tout le territoire.

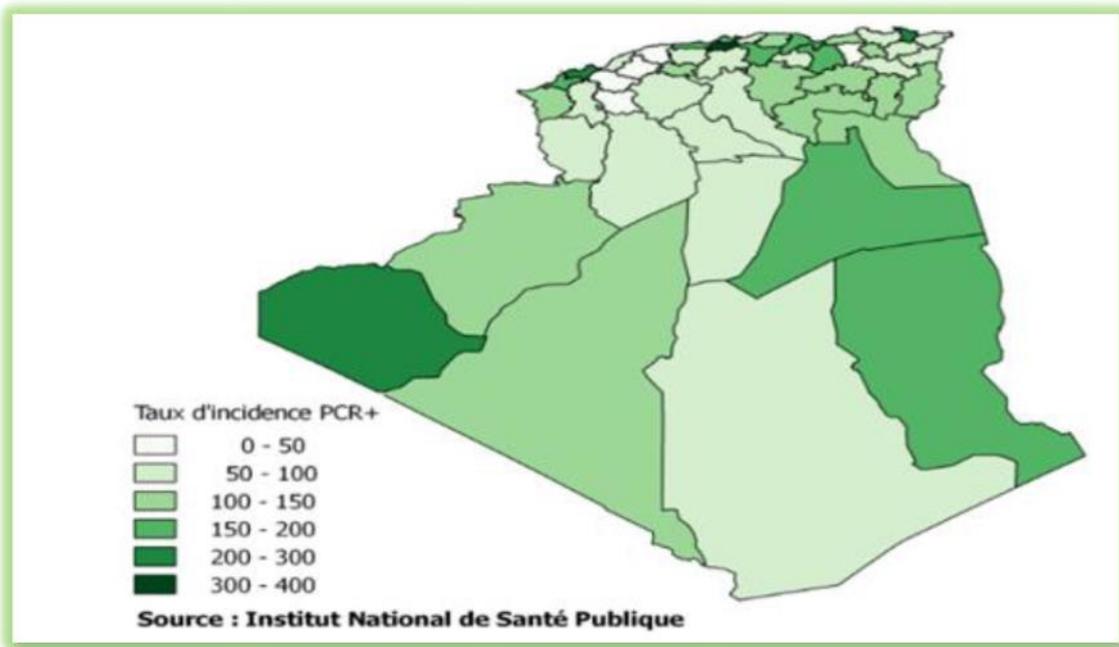


Figure1.4 Répartition des taux d'indice par wilaya d'Octobre 2020 (*Derkaoui et al., 2021*)

4. Aspect thérapeutique de la Covid-19 en Algérie

Pour la prévention de la maladie, l'Algérie a reçu trois(3) doses de vaccins selon la Directrice générale de la santé Wahiba Hadjoudj : AstraZeneca (50 ans et plus), Sputnik V ou Gam-COVID-Vac (Vecteur Viral non repliable : 91,6% d'efficacité) ainsi que le vaccin inactivé Sinovac-Coronavac (18 à 50ans).

II. Covid-19 et l'immunité innée

Lors de l'infection par le SRAS-CoV-2, le système immunitaire active en aval une première ligne de défense, l'immunité innée qui contribue en un recrutement de diverses cellules mononuclées, effectrices et phagocytaires telles que les monocytes.

1. Monocyte

A. Historique

Les monocytes, représentant environ 10 % du total des leucocytes chez l'homme et seulement 2 à 4 % chez la souris (*Italiani et Boraschi 2014*) ; sont des cellules phagocytaires libres dans la circulation sanguine, et provenant des cellules souches hématopoïétiques (*HSC, hematopoietic stem cells*) se

situant dans la moelle osseuse et la rate. En effet ce processus de développement des monocytes est produit par le biais de nombreux précurseurs myéloïdes-communs tels que les précurseurs myéloïdes communs à partir de HSC (*CMP, common myeloid progenitors*), précurseurs de granulocyte/macrophages (*GMP, granulocyte-macrophage progenitors*), qui sont identifiés par l'expression des récepteurs Fcy de CD16 et CD32 (*Akashi et al., 2000*), un précurseur de macrophages/DC (cellules dendritique) (*MDP, macrophage-dendritic cells progenitors*) et à la fin un précurseur commun des monocytes, identifié récemment un précurseur de la moelle osseuse différant de MDP par l'absence de l'expression de CD135 (Figure 1.5) (*Hettinger et al., 2013*).

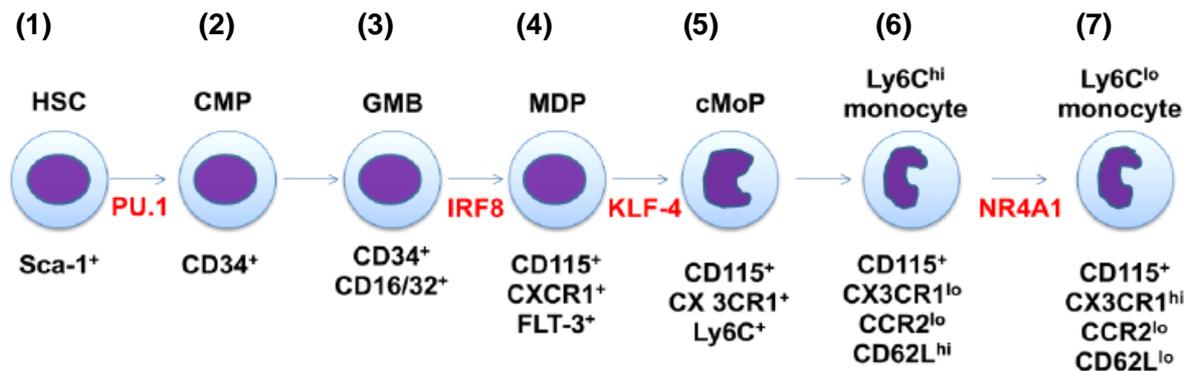


Figure1.5 Voie de développement des monocytes chez la souris (Terry and Miller, 2014) dans la Thèse (Nouari 2016)

Les monocytes sont dérivés à partir de HSC dans la moelle osseuse par l'intermédiaire de plusieurs précurseurs myéloïdes. Sca-1⁺HSC (1) donnant naissance à des cellules CMP CD34⁺ (2). Ces cellules à leur tour donnent naissance à des cellules CD34⁺CD16/32⁺ GMB (3). Une population de ces précurseurs exprime de ce fait CD115, CX3CR1 et flt-3⁺, connus sous le nom MDP (4). Un précurseur de monocyte récemment identifié en aval du MDP perd l'expression de flt-3⁺ et augmente la régulation du Ly6C⁺, connu sous le nom cMoP (5). Cette cellule donne naissance à des monocytes Ly6C^{high} (6), qui se différencient en monocytes Ly6C^{low}. HSC : cellules souches hématopoïétiques (hematopoietic stem cells), CMP : précurseurs myéloïdes communs (common myeloid progenitors), GMP : précurseurs de granulocyte/ macrophages (granulocyte-macrophage progenitors), MDP : précurseur de macrophages/cellules dendritique (macrophage-dendritic cell progenitors), PU.1 (purine-rich box-1), IRF8 (interferon regulatory factor-8) et KLF4 (Krüppel-like factor-4).

B. Classification

Les monocytes sont des cellules très hétérogènes. Ils expriment une variété de récepteurs et sont capable de changer leur phénotype fonctionnel en réponse à la stimulation de l'environnement (*Yang et al., 2014*) (Figure1.5). Basée sur l'expression des marqueurs de surface CD14 et CD16 (FcyRIII) (*Patel et Yona. 2019*) ; à l'heure actuelle, nous distinguons trois(3) sous-populations des monocytes chez l'homme selon le Comité de nomenclature de l'Union Internationale des Sociétés d'Immunologie (*Ziegler-Heitbrock et al., 2010*). La majeure partie des monocytes (~90%) dans le sang humain constituent les monocytes dits "classiques" ou "inflammatoire" avec une forte expression de CD14 mais pas celle de CD16 (CD14⁺⁺CD16⁻) ainsi qu'un niveau élevé de CCR2 ; le reste des sous-ensembles (~10%) représentant les monocytes "intermédiaires" qui se caractérisent par une faible

expression de CD16 avec un taux élevé de CD14(CD14⁺⁺CD16⁺) ainsi que les monocytes dits "non-classiques" ou "patrolling" ayant une forte expression de CD16 mais faiblement de CD14(CD14⁺CD16⁺⁺). (Yang et al., 2014 ; Wang et al., 2020)

Cependant, chez la souris en fonction de l'expression Ly6C à la surface des cellules ; les sous-ensembles Ly6Chigh (Ly6C⁺⁺) et Ly6Cmiddle (Ly6C⁺) jouent des rôles pro-inflammatoires avec expression d'un niveau élevé de CCR2 et quant aux Ly6Clow (Ly6C⁻) ,ils expriment un faible niveau de CCR 2, et patrouillant principalement le long de l'endothélium vasculaire et sont impliqués dans la réparation des tissus d'où leur homologie respective avec les monocytes classiques et non-classiques humains.(Yang et al., 2014)

En bref, les monocytes inflammatoires humains et murins expriment des niveaux élevés du récepteur de chimiokine CCR2 et des niveaux faibles du récepteur de chimiokine CX3CR1, tandis que les monocytes patrouilleurs présentent un schéma inverse. Par conséquent, les monocytes inflammatoires répondent à la chimiokine CCL2 qui sert de médiateur au recrutement des monocytes Ly6C⁺/CD14⁺ vers les sites inflammatoires (Tsou et al., 2007), tandis que les monocytes patrouilleurs répondent au ligand 1 de la chimiokine CX3C [CX3CL1, la fractalkine humaine et la neurotactine de la souris (Auffray et al., 2007), une chimiokine présente à la fois sous forme de protéine soluble et de chimiokine liée à la membrane qui est exprimée sur les cellules endothéliales et dans les tissus (Tableau1.1). (Italiani et Boraschi. 2014)

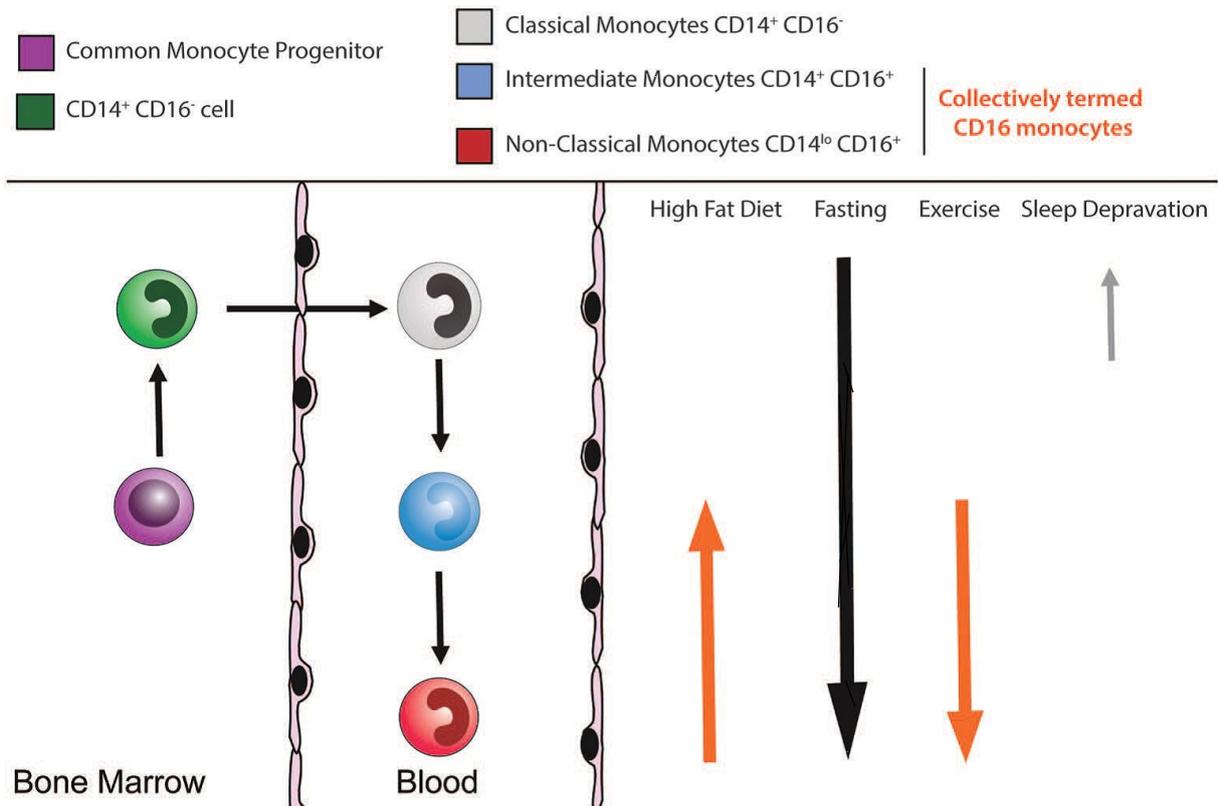


Figure 1.6 Sous-population de monocytes humains (*Patel & Yona 2019*)

Le pool de monocytes circulants constitue : les monocytes classiques CD14⁺CD16⁻ (gris), intermédiaires CD14⁺CD16⁺ (bleu) et monocyte CD14^{lo}CD16⁺ (rouge). Cependant plusieurs facteurs de stimulation externes peuvent avoir un impact sur ces sous-ensembles de monocytes.

Espèces	Sous-ensembles	Marqueurs externes	Récepteurs-chimiokines
Homme	Classique (90%)	CD14+CD16-	CCR2highCXCR1low
	Intermediaire (5%)	CD14++CD16+	CCR2midCX3CR1highCCRS+
	Non-classique (5%)	CD14+CD16++	CCR2lowCXCR1high
Souris	LyC6 "high" (5%)	CD11b+CD115+Ly6Chigh	CCR2highCXCR1low
	LyC6 "middle"	CD11b+CD115+Ly6Cmidle	CCR2highCXCR1low
	LyC6 "low" (~60%)	CD11b+CD115+Ly6Clow	CCR2lowCXCR1high

Tableau1.1 Sous-ensemble regroupé de monocytes Humains et Murins (*Italiani & Boraschi 2014; Wang et al., 2020*)

C. Rôle des monocytes

Le rôle physiologique des sous-ensembles de monocytes in vivo n'est pas entièrement défini. Ils pourraient avoir des rôles différents au cours de l'homéostasie, de la défense immunitaire/inflammation et de la réparation des tissus, en termes de capacité à s'activer et à sécréter des cytokines inflammatoires en réponse à différents stimuli, de traitement et de présentation des antigènes, de comportement pro-angiogénique et de patrouille. (*Italiani & Boraschi 2014*)

D. Differentiation

A un stade de l'inflammation, les monocytes migrent vers les muqueuses et les tissus pour se différencier et devenir cependant des précurseurs circulants de plusieurs populations de macrophages par le biais de la régulation de l'IL-6 et le facteur de stimulation des colonies de macrophages granulocytes (GM-CSF) (*Gomez-Rial et al., 2020*) et des cellules dendritiques tissulaires, afin d'occuper à ce titre une place prépondérante dans la mise en place des réponses immunitaires normales et pathologiques. (*Coillard et Segura 2019*)

2. Monocytes : Rôles dans la Covid-19

Les phagocytes mononucléaires constituent une famille de cellules largement distribuées qui contribuent à l'immunité innée et adaptative. Les monocytes circulants et les macrophages tissulaires naturellement dotés d'une extrême plasticité participent à toutes les étapes du SRAS COVID-19. Ils contribuent aux comorbidités qui prédisposent à l'infection clinique, à la résistance et à la dissémination du virus, ainsi qu'aux facteurs de l'hôte qui déterminent la gravité, la guérison et les séquelles de la maladie. (Martinez et al., 2020)

A. Stade précoce dans la pathogenèse du SRAS-COV-2

En réponse à une infection virale, les cellules de l'hôte produisent immédiatement des cytokines qui constituent la première alarme suite à leur reconnaissance des motifs exprimés par le virus (PAMPs : pathogen-associated molecular patterns), comme les Toll-like receptors (TLR) 7 et 8 interagissant avec l'ARN viral (Sa Ribero et al., 2020 ; Schneider et al., 2014). Parmi celles-ci, les interférons de type I (IFN-I) qui sont des composants cruciaux du système immunitaire inné contre les virus (Schneider et al., 2014) caractérisée par l'expression puissante des Interferon-stimulated genes (ISG), qui permettent aux cellules d'avoir un profil antiviral afin de limiter la propagation du virus et induisant par la suite une forte augmentation de l'expression de CD169 (également connu sous le nom de Siglec-1) sur les monocytes circulants (mCD169). (Ortillon et al., 2021)

B. Infection des monocytes par le SRAS-COV-2

Cette infection peut se dérouler soit par une voie dépendante ou indépendante de l'ACE2. Par la suite le SRAS-COV-2 induit une efficace suppression de la réponse antivirale IFN des monocytes, tout en compromettant les réponses immunitaires adaptatives contre le virus par infection des CPA : DC et Macrophages et par réduction des lymphocytes T et B. (Vadillo et al., 2021)

Durant ce processus les monocytes migrent vers les tissus où ils deviennent des macrophages résidents infectés contribuant ainsi à la propagation du virus dans les tissus et organes (cœur, intestin, cerveau et reins) par un mécanisme de "cheval de Troie" via le récepteur CD169 des monocytes de type M1. Ces monocytes et macrophages infectés produisent en quantité élevée de nombreux types de cytokines (tels que : IL-1B, IFN de type I, IL-6, TNFa) et chimiokines (tels que : IL-8 ou CXCL8 et MCP-1 ou CCL2) pro-inflammatoires, contribuant à l'inflammation locale des tissus et à une dangereuse réponse inflammatoire systémique appelée "tempête de cytokines" (cytokine Storm). (Fernando et al., 2020 ; Jafarzadeh et al., 2020)

- **Tempête cytokinique**

Le syndrome de libération de cytokines (CRS) ou cytokine Storm est une forme de réponse inflammatoire systémique généralement déclenché par une variété de facteurs tels que les infections et les médicaments. (*Shimabukuro-Vornhagen et al., 2018*)

Par conséquent, lorsque les macrophages et DC ont un défaut de galvanisation et d'éducation pour l'activation des lymphocytes T et B, ils surproduisent de façon aberrante des cytokines comme l'IL-6 et le TNF α dans l'effort de contrôler l'infection; par la suite cela entrainera une cascade d'inflammation aboutissant au développement du CRS et les lésions pulmonaires aiguës qui s'ensuivent, conduisant ainsi au syndrome de détresse respiratoire aiguë (ARDS) hyper-inflammatoire et thrombotiques dans les poumons, qui est une conséquence redoutée de l'infection par la COVID-19 pouvant mener éventuellement au décès. (*Fernando et al., 2020 ; Geller & Yan 2020*)

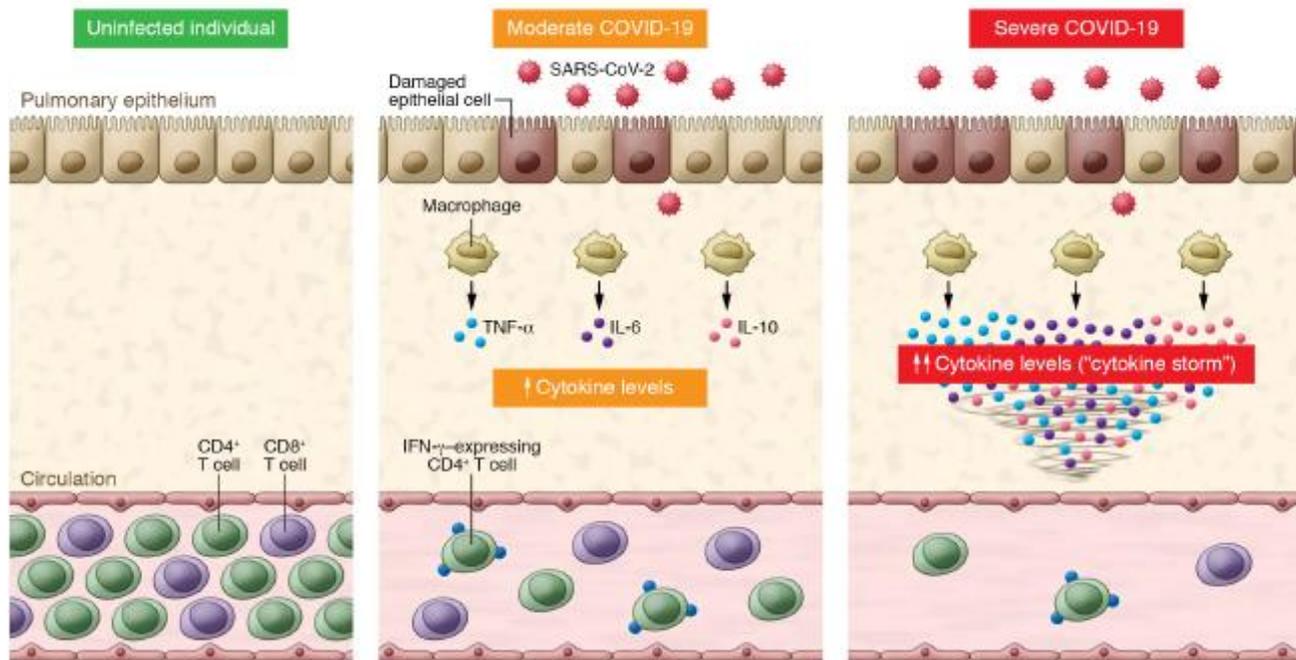


Figure1.7 Mécanismes : déclenchement de cytokine Storm, adapté d'après (Pedersen & Ho 2020)

la covid19 étant causée par le SRAS-CoV-19, par rapport aux non-infectés (panneau gauche), les cas modérés de la maladie montrent un taux élevé d'IL-6 avec une diminution du nombre total de lymphocytes T (LT) dont les TCD4⁺ et TCD8⁺ (panneau milieu). Dans le cas sévère : une surproduction d'IL-6, d'IL-2R, d'IL-10 et TNF α montrant une diminution de TCD4⁺ et TCD8⁺ exprimant l'IFN- γ (panneau droite). Cette tempête cytokine et lymphopénie T mène à l'ARDS.

III. Notion de Piège monocytaires (MoET)

1. Généralité

Les Traps/pièges extracellaires en général ont été Initialement décrit en 2004 par Brinkmann et al chez les neutrophiles comme conséquence de la stimulation avec l'acétate de myristate de phorbol, le LPS et l'IL-8, des agents pathogènes extracellulaires notamment *Candida albicans*, *Streptococcus aureus*, des virus, d'autres cytokines, des cristaux de cholestérol et d'urate, des lipides, un taux de glucose élevé, des plaquettes activées, complément (C5a), hypoxie, et modulateurs des récepteurs des œstrogènes. Ce mécanisme par lequel les neutrophiles forment les *NETs* dépend de la nature du stimulus et se procèdent par décondensation de la chromatine, rupture nucléaire et enfin libération de NET (Figure 1.6). La libération est précédée d'une rupture de la membrane plasmique, un processus appelé NETose lytique. L'acétate de myristate de phorbol, le LPS et divers types de bactéries, comme *Pseudomonas aeruginosa*, activent la voie Raf-MEK-ERK (protéine kinase activée par un mitogène, kinase régulée extracellulaire) qui stimule la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par NOX2 (NADPH : complexe nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxydase 2 ; formation de NET dépendante de NOX2). (Sorvillo et al., 2019)

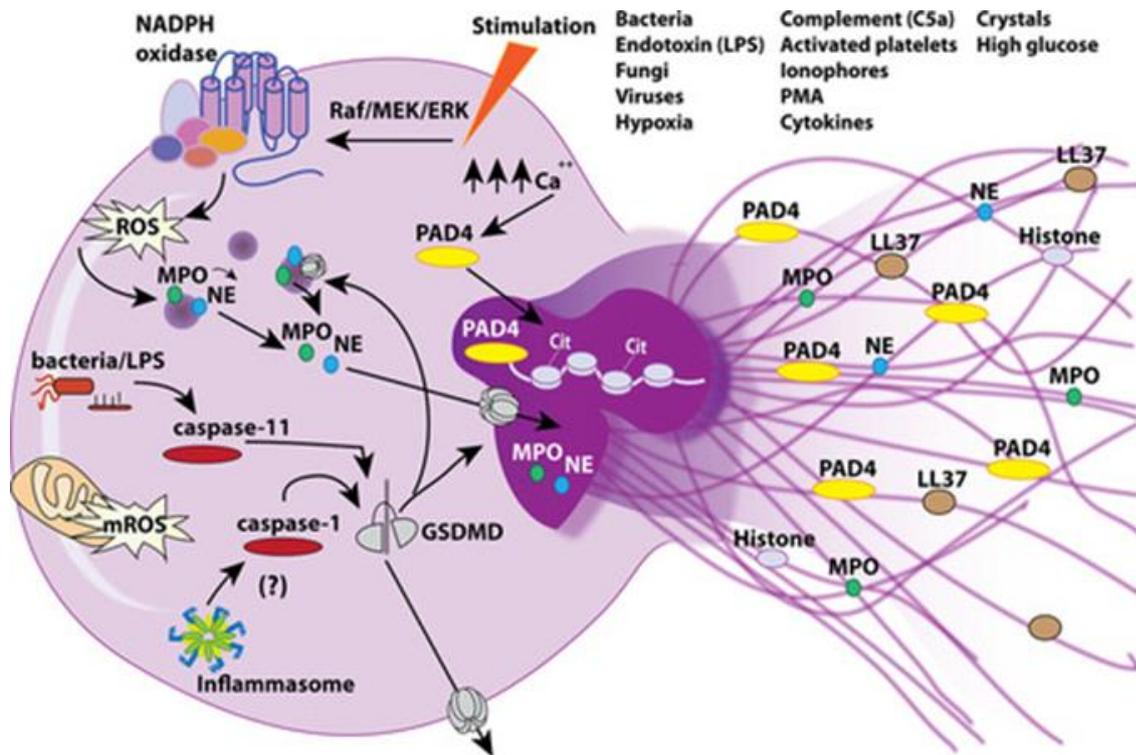


Figure 1.8 Processus de formation du piège extracellulaire des neutrophiles (NET) (Sorvillo et al., 2019)

Différents stimuli activent des voies intracellulaires distinctes qui conduisent à la formation de NET. Les stimuli peuvent entraîner la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) par activation de la NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) oxydase via la voie Raf-MEK-ERK (mitogen-activated protein kinase, kinase régulée extracellulaire). L'augmentation du calcium intracellulaire conduit à l'activation de PAD4 (peptidylarginine déiminase de type IV). Dans le noyau, PAD4 citrullinise les histones favorisant la décondensation de la chromatine. La production de ROS cytosoliques ou mitochondriaux (*mROS*) permet la libération de NE (élastase des neutrophiles) et de MPO (myéloperoxydase) à partir des granules de neutrophiles. MPO et NE migrent vers le noyau, contribuant également à la décondensation de la chromatine. Plusieurs stimuli conduisent à la voie de l'inflammasome NLRP3 (domaine de la pyrine de la famille NLR contenant 3), provoquant potentiellement l'activation de la caspase-1, tandis que le LPS (lipopolysaccharide) intracellulaire et les bactéries activent la caspase-11. La NE et les caspases-1 et -11 clivent/activent la GSDMD (gasdermine D) qui forme des pores dans les membranes nucléaire et plasmique. La décondensation de la chromatine et le gonflement nucléaire ainsi que les pores du GSDMD permettent la rupture de la membrane nucléaire et la libération de la chromatine dans le cytosol, entraînant la décoration de la chromatine avec des protéines neutrophiles. Par la suite, des ruptures de la membrane plasmique sur un ou plusieurs sites et des NETs, décorées de protéines neutrophiles telles que PAD4, MPO, NE, LL-37 et histones, sont libérées.

2. Mécanismes de formation d'Etose ou "ETosis"

Les pièges/Traps extracellulaires (ET) des monocytes sont des filaments d'ADN extracellulaire (d'origine mitochondriale et nucléaire) (*Granger et al. 2017*) formés durant l'activation des monocytes en réponse à de nombreux stimuli. Cependant ils présentent un aspect <<diffus>> analogue à ceux des neutrophiles (NET) et sont caractérisés par la présence de l'histone citrullinées (citH3), d'élastine(E), de lactoferrine(LF), de la myéloperoxydase (MPO). (*Brinkmann et al., 2004; Granger et al., 2017*)

Le processus biologique de génération des MoET, appelé ETosis est un genre de mort cellulaire spécifiques, différent de la nécrose ainsi que de l'apoptose suite à la maintenance de l'intégrité de la membrane plasmique chez la cellule. Il s'agit d'un programme de mort cellulaire en plusieurs étapes : les enzymes des granules se déplacent vers le noyau/mitochondrie (monocytes) et provoquer une décondensation de la chromatine. Cette propriété chez les monocytes face à de nombreux stimuli les permet de maintenir un important profil antimicrobien contre : bactéries, parasites, protozoaires, virus et pro-inflammatoire (*Mozzini et Girelli 2020*). L'Etose ainsi induite dépend de l'assemblage/activation du complexe NADPH oxydase (NOX) conduisant à la production de ROS (reactive oxygen species). (*Yang et al., 2018*)

Problématique

Les monocytes sont tout de même dotées de divers rôles importants en tant que l'une des cellules clés de l'immunité innée au cours des infections.



Le SARS-CoV-2, dans sa pathogénèse a montré une susceptibilité d'infection des cellules phagocytaires



L'expression des Traps/Pièges extracellulaires par les monocytes sera-t-elle générée suite à un second contact avec SARS-CoV-2 ?

Objectif

L'essai d'évaluation du niveau d'expression des Traps/pièges des MO qui pourraient être générés comme résultat lors de la seconde infection du SRAS-CoV-2.

But

Nous montrons en parallèle que si le SRAS-CoV-2 a la capacité d'induire la libération des TRAPS/PIEGES par les monocytes au cours de l'infection par SRAS-Covid 19.

Chapitre 2. Matériels et Méthodes

I. Déclaration éthique

Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique local de l'Université de Tlemcen et conformément à la Déclaration d'Helsinki.

II. Isolation des cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC)

Les PBMC ont été isolées à partir de sang veineux frais sains collectés dans des tubes contenant de l'acide éthylènediaminotétracétique (EDTA) (BD, Belliver Industrial Estate, Royaume-Uni). Les échantillons de sang ont d'abord été dilués avec un volume égal (3,5ml) à l'aide du PBS 1:1 (phosphate-buffered saline) et déposé sur 3,5ml d' Histopaque-1077 (Sigma-Aldrich, St. Louis MO, USA) pour une centrifugation par gradient de densité à 400 x g pendant 30 min. La bande d'interface opaque contenant les PBMC a été soigneusement récoltée et lavée deux fois avec du PBS (10ml) par centrifugation à 100 x g durant 10 min. Les culots cellulaires ont ensuite été mis en suspension dans 1 ml (0,5 ml/chaque culot cellulaire isolé) de RPMI-1640 (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) additionné de 10% FCS (sérum de vœu fœtal), 1 mM de pyruvate de sodium et 50 g/ml de gentamicine pour le comptage cellulaire. La viabilité cellulaire a été réalisée par TBET (test d'exclusion au bleu Trypan) par microscopie photonique (Zeiss, Allemagne). (*Dahlouk et al., 2016 ; Dahmani et al., 2020 ; Milliani et al., 2018*)

III. Isolation des Monocytes (MO)

Les monocytes ont été isolés des PBMC sur la base d'une adhérence en plastique différentielle. Les PBMC ont étéensemencées à 2×10^6 cellules/ml dans des plaques à 24 puits contenant du RPMI 1640, complété avec 2 mM de l-glutamine, 50 mg/ml de gentamicine et 10 % de FCS, puis incubé 2h à 37°C dans 5% CO₂ avec atmosphère humide (*Richardson et Fedoroff 1997*). Les cellules ont pu adhérer avant l'élimination des cellules non adhérentes et le traitement des MO adhérents avec MET. Les cellules ont été comptées au microscope (Zeiss, Allemagne) en utilisant une coloration au bleu Trypan. (*Dahmani et al., 2020 ; Milliani et al., 2018*)

IV. Dosage de l'activité de la myéloperoxydase associée à l'étose

L'évaluation d'*ETosis* reposait sur la mesure indirecte de l'activité de la myéloperoxydase (MPO) après son action sur le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Harwood et al., 2006 ; Pulli et al., 2013) (modifié par Aribi ; Laboratoire W0414100, Université de Tlemcen, 13000 Tlemcen, Algérie). Le taux de décomposition de H₂O₂ par MPO est déterminé en mesurant le taux d'acide hypochloreux (HOCl), qui est généré à partir de H₂O₂ et de chlorure dans le milieu extracellulaire comme suit : $H_2O_2 + Cl^- \rightarrow HOCl + OH^\bullet$ (Tvrdá et al., 2020). Le HOCl produit par les monocytes activés peut oxyder le bromure (Br⁻) in vitro. En bref, 10 µl de milieu extracellulaire dans du PBS (pH 7,4) ont été ajoutés à 10 µl de bromure de sodium 22 mM (NaBr). La concentration en HOBr a été déterminée en mesurant son absorbance à 330 nm (pH 12, $\epsilon_{330}=332 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), comme rapporté (Kumar et al., 1987). Le niveau de HOCl a été estimé à l'aide d'un standard préparé dans les mêmes conditions en ajoutant 10 µL de bromure de sodium 22 mM à 10 µL de HOCl 20 mM dans du PBS (pH 7,4). Les résultats d'*Etosis* ont été validés par microscopie à fluorescence à l'aide de la Fluid Cell Imaging Station.

Chapitre3. Résultat et Discussion

Résultats confidentiels jusqu'à publication.

Chapitre 4. Conclusions et Perspectives

Les ET présentent une efficacité étendue contre une diversité d'agents pathogènes, notamment les bactéries Gram-positives et Gram-négatives, les champignons, les parasites et les virus.

En perspective, les résultats sont en cours d'accomplissement au Laboratoire de Biologie Moléculaire appliquée et Immunologie. Nous attendons pour ne pas être pénalisés par le délai donné par l'administration et pour respecter la méthodologie dans la recherche, nous devons aller jusqu'à la première semaine du mois d'Aout afin de terminer cette partie.

Chapitre 5. Bibliographie

Anne Gatignol, 9 juin 2020 - Syndrome respiratoire aigu sévère dû au coronavirus 2 (SRAS-CoV-2) : faut-il cibler le virus, la cellule ou la maladie ?

Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC & Garry RF (2020) The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat. Med.* 26, 450–452.

Announcement from the Headquarter for novel coronavirus pneumonia prevention and control (No. 1). Beijing: China National Health Commission, 2020. http://www.gov.cn/xinwen/2020-01/23/content_5471751.htm (accessed Jan 23, 2020).

Akashi, K., Traver, D., Miyamoto, T., and Weissman, I.L. (2000). A clonogenic common myeloid progenitor that gives rise to all myeloid lineages. *Nature* 404, 193–197.

Arunachalam, R. and Vaithilingaraja, A. (2020): Insights into Cross-species Evolution of Novel Human Coronavirus 2019-nCoV and Defining Immune Determinants for Vaccine Development. *BioRxiv*. Doi: <https://doi.org/10.1101/2020.01.29.925867>

Auffray C, Fogg D, Garfa M, Elain G, Join-Lambert O, Kayal S, Sarnacki S, Cumano A, Lauvau G & Geissmann F (2007) Monitoring of Blood Vessels and Tissues by a Population of Monocytes with Patrolling Behavior. *Science* 317, 666–670.

Auffray C, Sieweke MH & Geissmann F (2009) Blood Monocytes: Development, Heterogeneity, and Relationship with Dendritic Cells. *Annu. Rev. Immunol.* 27, 669–692.

B. Pulli, M. Ali, R. Forghani, S. Schob, K.L.C. Hsieh, G. Wojtkiewicz, J.J. Linnoila, J.W. Chen, Measuring myeloperoxidase activity in biological samples, *PloS One.* 8 (2013) e67976. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067976>.

Brinkmann V (2004) Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science* 303, 1532–1535.

Burrell C, Howard C, Murphy F. Fenner and White's medical virology. 5th ed. United States: Academic Press; 2016.

Chauhan DS, Yadav S & Quraishi MA (2021) Natural products as environmentally safe and green approach to combat Covid-19. *Curr. Res. Green Sustain. Chem.* 4, 100114.

Clarke NE & Turner AJ (2012) Angiotensin-Converting Enzyme 2: The First Decade. *International Journal of Hypertension* 2012, 1–12.

Coillard A & Segura E (2019) In vivo Differentiation of Human Monocytes. *Front. Immunol.* 10, 1907.

- Dahmani Z, Addou-Klouche L, Gizard F, Dahou S, Messaoud A, Chahinez Djebri N, Benaissti MI, Mostefaoui M, Terbeche H, Nouari W, Miliiani M, Lefranc G, Fernandez A, Lamb NJ & Aribi M (2020) Metformin partially reverses the inhibitory effect of co-culture with ER-/PR-/HER2+ breast cancer cells on biomarkers of monocyte antitumor activity S. V. Pizzo, ed. *PLOS ONE* 15, e0240982.
- de Abajo FJ, Rodríguez-Martín S, Lerma V, Mejía-Abril G, Aguilar M, García-Luque A, Laredo L, Laosa O, Centeno-Soto GA, Ángeles Gálvez M, Puerro M, González-Rojano E, Pedraza L, de Pablo I, Abad-Santos F, Rodríguez-Mañas L, Gil M, Tobías A, Rodríguez-Miguel A, Rodríguez-Puyol D, & MED-ACE2-COVID19 study group (2020) Use of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors and risk of COVID-19 requiring admission to hospital: a case-population study. *Lancet Lond. Engl.* 395, 1705–1714.
- Derkaoui D, Abdessamad D-A & Noureddine B (2021) SARS-CoV-2 & COVID-19. From Virology to Epidemiology: “Epidemiological situation in Algeria and in West Algerian area.” *Egypt. Acad. J. Biol. Sci. C Physiol. Mol. Biol.* 13, 41–59.
- Domínguez-Andrés J & Netea MG (2019) Metabolic Adaptation Sets the Fate of Regulatory Macrophages. *Cell Metab.* 29, 1240–1242.
- Duroux-Richard I, Robin M, Peillex C & Apparailly F (2019) MicroRNAs: Fine Tuners of Monocyte Heterogeneity. *Front. Immunol.* 10, 2145.
- D.T. Harwood, A.J. Kettle, C.C. Winterbourn, Production of glutathione sulfonamide and dehydroglutathione from GSH by myeloperoxidase-derived oxidants and detection using a novel LC-MS/MS method, *Biochem. J.* 399 (2006) 161–168. <https://doi.org/10.1042/BJ20060978>.
- Du L, He Y, Zhou Y, Liu S, Zheng B-J & Jiang S (2009) The spike protein of SARS-CoV--a target for vaccine and therapeutic development. *Nat. Rev. Microbiol.* 7, 226–236.
- E. Tvrda, F. Benko, Free radicals: what they are and what they do, in: *Pathology (Phila.)*, Elsevier, 2020: pp. 3–13. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815972-9.00001-9>.
- Fanucchi, S., Fok, E. T., Dalla, E., Shibayama, Y., Borner, K., Chang, E. Y. et al., Immune genes are primed for robust transcription by proximal long noncoding RNAs located in nuclear compartments. *Nat. Genet.* 2019. 51:138–150.
- Granger V, Faille D, Marani V, Noël B, Gallais Y, Szely N, Flament H, Pallardy M, Chollet-Martin S & Chaisemartin L (2017) Human blood monocytes are able to form extracellular traps. *J. Leukoc. Biol.* 102, 775–781.
- Geller A & Yan J (2020) Could the Induction of Trained Immunity by β -Glucan Serve as a Defense Against COVID-19? *Front. Immunol.* 11, 1782.

Ginhoux F, Mildner A, Gautier EL, Schlitzer A, Jakubzick C, Varol C, Bain C & Guermonprez P (2021) Editorial: Monocyte Heterogeneity and Function. *Front. Immunol.* 11, 626725.

Gomez-Rial J, Rivero-Calle I, Salas A & Martinon-Torres F (2020) Role of Monocytes/Macrophages in Covid-19 Pathogenesis: Implications for Therapy. *Infect. Drug Resist.* Volume 13, 2485–2493.

Hettinger, J., Richards, D.M., Hansson, J., Barra, M.M., Joschko, A.-C., Krijgsveld, J., and Feuerer, M. (2013). Origin of monocytes and macrophages in a committed progenitor. *Nat.Immunol.* 14, 821–830.

Hofer TP, van de Loosdrecht AA, Stahl-Hennig C, Cassatella MA & Ziegler-Heitbrock L (2019) 6-Sulfo LacNAc (Slan) as a Marker for Non-classical Monocytes. *Front. Immunol.* 10, 2052.

Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu N-H, Nitsche A, Müller MA, Drosten C & Pöhlmann S (2020) SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 181, 271-280.e8.

Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J & Cao B (2020) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet* 395, 497–506.

Huang I-C, Bosch BJ, Li F, Li W, Lee KH, Ghiran S, Vasilieva N, Dermody TS, Harrison SC, Dormitzer PR, Farzan M, Rottier PJM & Choe H (2006) SARS Coronavirus, but Not Human Coronavirus NL63, Utilizes Cathepsin L to Infect ACE2-expressing Cells. *J. Biol. Chem.* 281, 3198–3203.

Hottz ED, Azevedo-Quintanilha IG, Palhinha L, Teixeira L, Barreto EA, Pão CRR, Righy C, Franco S, Souza TML, Kurtz P, Bozza FA & Bozza PT (2020) Platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation trigger tissue factor expression in patients with severe COVID-19. *Blood* 136, 1330–1341.

Iglesias-Escudero M, Sansegundo-Arribas D, Riquelme P, Merino-Fernández D, Guiral-Foz S, Pérez C, Valero R, Ruiz JC, Rodrigo E, Lamadrid-Perojo P, Hutchinson JA, Ochando J & López-Hoyos M (2020) Myeloid-Derived Suppressor Cells in Kidney Transplant Recipients and the Effect of Maintenance Immunotherapy. *Front. Immunol.* 11, 643.

Institut National de Santé Publique INSP (2020) : Bulletin épidémiologique N° 153 du 30 novembre, Algérie. <http://insp.dz/index.php/news/coronavirus.html> Institut National de Santé Publique INSP (2020) : Bulletin épidémiologique N° 154 03 decembre, Algérie. <http://insp.dz/index.php/news/coronavirus.html>

Institut national de santé publique INSP (2020) : Pandémie de Covid-19, Algérie. Situation épidémiologique du 01 octobre . Bulletin N° 129 du 01 octobre 2020 Institut National de Santé Publique, 2020, Bulletin épidémiologique N°1 du 19 avril 2020, Algérie). Algerian Ministry of Health, 2020; ONSA,Office national des statistiques d'Algérie. Retrieved from [http:// www.ons.dz/](http://www.ons.dz/) Institut national de santé publique. Pandémie de Covid-19, Algérie. Situation épidémiologique du 24 juillet 2020.

Italiani P & Boraschi D (2014) From Monocytes to M1/M2 Macrophages: Phenotypical vs. Functional Differentiation. *Front. Immunol.* 5. Available at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2014.00514/abstract> [Accessed June 11, 2021].

Jafarzadeh A, Chauhan P, Saha B, Jafarzadeh S & Nemati M (2020) Contribution of monocytes and macrophages to the local tissue inflammation and cytokine storm in COVID-19: Lessons from SARS and MERS, and potential therapeutic interventions. *Life Sci.* 257, 118102.

Kim D, Lee J-Y, Yang J-S, Kim JW, Kim VN & Chang H (2020) The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell* 181, 914-921.e10.

K. Kumar, D.W. Margerum, Kinetics and mechanism of general-acid-assisted oxidation of bromide by hypochlorite and hypochlorous acid, *Inorg. Chem.* 26 (1987) 2706–2711. <https://doi.org/10.1021/ic00263a030>.

Li H, Liu S-M, Yu X-H, Tang S-L & Tang C-K (2020) Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. *Int. J. Antimicrob. Agents* 55, 105951.

Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020. DOI: 10.1056/NEJMoa200131 26 Netea, M. G., Dominguez-Andres, J., Barreiro, L. B., Chavakis, T., Divangahi

Kapellos TS, Bonaguro L, Gemünd I, Reusch N, Saglam A, Hinkley ER & Schultze JL (2019) Human Monocyte Subsets and Phenotypes in Major Chronic Inflammatory Diseases. *Front. Immunol.* 10, 2035.

M., Fuchs, E. et al. Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 2020. 20: 375–388.

Mahmoud IS, Jarrar YB, Alshaer W & Ismail S (2020) SARS-CoV-2 entry in host cells-multiple targets for treatment and prevention. *Biochimie* 175, 93–98.

Miliani M, Nouar M, Paris O, Lefranc G, Mennechet F & Aribi M (2018) Thymoquinone Potently Enhances the Activities of Classically Activated Macrophages Pulsed with Necrotic Jurkat Cell Lysates and the Production of Antitumor Th1-/M1-Related Cytokines. *J. Interferon Cytokine Res.* 38, 539–551.

Masters PS (2006) The Molecular Biology of Coronaviruses. In *Advances in Virus Research*. Elsevier, pp.193–292. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065352706660053> [Accessed June 23, 2021].

Martinez FO, Combes TW, Orsenigo F & Gordon S (2020) Monocyte activation in systemic Covid-19 infection: Assay and rationale. *EBioMedicine* 59, 102964.

Meidaninikjeh S, Sabouni N, Marzouni HZ, Bengar S, Khalili A & Jafari R (2021) Monocytes and macrophages in COVID-19: Friends and foes. *Life Sci.* 269, 119010.

Mozzini C & Girelli D (2020) The role of Neutrophil Extracellular Traps in Covid-19: Only an hypothesis or a potential new field of research? *Thromb. Res.* 191, 26–27.

Ortillon M, Coudereau R, Cour M, Rimmelé T, Godignon M, Gossez M, Yonis H, Argaud L, Lukaszewicz A, Venet F & Monneret G (2021) Monocyte CD169 expression in COVID -19 patients upon intensive care unit admission. *Cytometry A* 99, 466–471.

Quartuccio L, Fabris M, Sonaglia A, Peghin M, Domenis R, Cifù A, Curcio F & Tascini C (2021) Interleukin 6, soluble interleukin 2 receptor alpha (CD25), monocyte colony-stimulating factor, and hepatocyte growth factor linked with systemic hyperinflammation, innate immunity hyperactivation, and organ damage in COVID-19 pneumonia. *Cytokine* 140, 155438.

Patel AA & Yona S (2019) Inherited and Environmental Factors Influence Human Monocyte Heterogeneity. *Front. Immunol.* 10, 2581.

Pedersen SF & Ho Y-C (2020) SARS-CoV-2: a storm is raging. *J. Clin. Invest.* 130, 2202–2205.

Ren, Li-Li. ; Wang, Ye-Ming.; Wu, Zhi-Qiang.; Xiang, Zi-Chun.; Guo, Li. and Xu, Teng.; Jiang, Yong-Zhong.; Xiong, Yan.; Li, Yong-Jun.; et al. (2020): Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. *Chinese medical journal*, May

Richardson A, Fedoroff S. 1997. Quantification of cells in culture. In: Fedoroff S, Richardson A, eds. *Protocols for neural cell culture*. Totowa (NJ): Humana Press, p 219–233.

Sa Ribero M, Jouvenet N, Dreux M, Nisole S. Interplay between SARS-CoV-2 and the type I interferon response. *PLoS Pathog.* 2020;16:e1008737

Shang J, Wan Y, Luo C, Ye G, Geng Q, Auerbach A & Li F (2020) Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 117, 11727–11734.

Shimabukuro-Vornhagen A, Gödel P, Subklewe M, Stemmler HJ, Schlößer HA, Schlaak M, Kochanek M, Böll B & von Bergwelt-Baildon MS (2018) Cytokine release syndrome. *J. Immunother. Cancer* 6, 56.

Simmons G, Gosalia DN, Rennekamp AJ, Reeves JD, Diamond SL & Bates P (2005) Inhibitors of cathepsin L prevent severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 11876–11881.

Simmons G, Zmora P, Gierer S, Heurich A & Pöhlmann S (2013) Proteolytic activation of the SARS-coronavirus spike protein: Cutting enzymes at the cutting edge of antiviral research. *Antiviral Res.* 100, 605–614.

- Schneider WM, Chevillotte MD, Rice CM. Interferon-stimulated genes: a complex web of host defenses. *Annu Rev Immunol.* 2014;32:513–45
- Spagnuolo G, De Vito D, Rengo S & Tatullo M (2020) COVID-19 Outbreak: An Overview on Dentistry. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 17, 2094.
- Song W, Gui M, Wang X & Xiang Y (2018) Cryo-EM structure of the SARS coronavirus spike glycoprotein in complex with its host cell receptor ACE2. *PLoS Pathog.* 14, e1007236.
- Sorvillo, N., Cherpokova, D., Martinod, K., and Wagner, D.D. (2019). Extracellular DNA NET-Works With Dire Consequences for Health. *Circ. Res.* 125, 470–488.
- Terry RL & Miller SD (2014) Molecular control of monocyte development. *Cell. Immunol.* 291, 16–21.
- Tikellis C & Thomas MC (2012) Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) Is a Key Modulator of the Renin Angiotensin System in Health and Disease. *Int. J. Pept.* 2012, 1–8.
- Tsou C-L, Peters W, Si Y, Slaymaker S, Aslanian AM, Weisberg SP, Mack M & Charo IF (2007) Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites. *J. Clin. Invest.* 117, 902–909.
- Vadillo E, Taniguchi-Ponciano K, Lopez-Macias C, Carvente-Garcia R, Mayani H, Ferat-Osorio E, Flores-Padilla G, Torres J, Gonzalez-Bonilla CR, Majluf A, Albarran-Sanchez A, Galan JC, Peña-Martínez E, Silva-Román G, Vela-Patiño S, Ferreira-Hermosillo A, Ramirez-Renteria C, Espinoza-Sanchez NA, Pelayo-Camacho R, Bonifaz L, Arriaga-Pizano L, Mata-Lozano C, Andonegui-Elguera S, Wachter N, Blanco-Favela F, De-Lira-Barraza R, Villanueva-Compean H, Esquivel-Pineda A, Ramírez-Montes-de-Oca R, Anda-Garay C, Noyola-García M, Guizar-García L, Cerbulo-Vazquez A, Zamudio-Meza H, Marrero-Rodríguez D & Mercado M (2021) A Shift Towards an Immature Myeloid Profile in Peripheral Blood of Critically Ill COVID-19 Patients. *Arch. Med. Res.* 52, 311–323.
- Wei Q, Wang Y, Ma J, Han J, Jiang M, Zhao L, Ye F, Song J, Liu B, Wu L, Tan W, Wu G, F. Gao G, Liu J, National Pathogen Resource Center, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing, China, NHC Key Laboratory of Biosafety, National Institute for Viral Disease Control and Prevention, China CDC, Beijing, China, & National Microbiology Data Center, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Science, Beijing, China (2020) Description of the First Strain of 2019-nCoV, C-Tan-nCoV Wuhan Strain — National Pathogen Resource Center, China, 2020. *China CDC Wkly.* 2, 81–82.
- WHO organization deasCOVID-19 Weekly Epidemiological Update WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 30 November 2020. World
- Wu Y-C, Chen C-S & Chan Y-J (2020) The outbreak of COVID-19: An overview. *J. Chin. Med. Assoc.* 83, 217–220.

- Wu D, Wu T, Liu Q & Yang Z (2020) The SARS-CoV-2 outbreak: What we know. *Int. J. Infect. Dis.* 94, 44–48. Wu K, Lin K, Li X, Yuan X, Xu P, Ni P & Xu D (2020) Redefining Tumor-Associated Macrophage Subpopulations and Functions in the Tumor Microenvironment. *Front. Immunol.* 11, 1731.
- Xu H, Zhong L, Deng J, Peng J, Dan H, Zeng X, Li T & Chen Q (2020) High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *Int. J. Oral Sci.* 12, 8.
- Yan J, Guo J, Fan C, Juan J, Yu X, Li J, Feng L, Li C, Chen H, Qiao Y, Lei D, Wang C, Xiong G, Xiao F, He W, Pang Q, Hu X, Wang S, Chen D, Zhang Y, Poon LC & Yang H (2020) Coronavirus disease 2019 in pregnant women: a report based on 116 cases. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 223, 111.e1-111.e14.
- Yang Z, Wei Z, Hermosilla C, Taubert A, He X, Wang X, Gong P, Li J & Zhang X (2018) Caprine Monocytes Release Extracellular Traps against *Neospora caninum* In Vitro. *Front. Immunol.* 8, 2016.
- Ysmail-Dahlouk L, Nouari W & Aribi M (2016) 1,25-dihydroxyvitamin D₃ down-modulates the production of proinflammatory cytokines and nitric oxide and enhances the phosphorylation of monocyte-expressed STAT6 at the recent-onset type 1 diabetes. *Immunol. Lett.* 179, 122–130.
- Y. Wang, W. Smith, D. Hao, B. He, L. Kong, M1 and M2 macrophage polarization and potentially therapeutic naturally occurring compound, *Int. Immunopharmacol.* 70 (2019) 459–466.
- Zhang T, Wu Q & Zhang Z (2020) Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. *Curr. Biol.* 30, 1346-1351.e2.
- Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, et al. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood.* 2010;116(16):e74-e80.
- Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, Si H-R, Zhu Y, Li B, Huang C-L, Chen H-D, Chen J, Luo Y, Guo H, Jiang R-D, Liu M-Q, Chen Y, Shen X-R, Wang X, Zheng X-S, Zhao K, Chen Q-J, Deng F, Liu L-L, Yan B, Zhan F-X, Wang Y-Y, Xiao G-F & Shi Z-L (2020) A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579, 270–273.

Résumé

Introduction : Le SRAS-CoV-2 est un bêta-coronavirus responsable de la pandémie à Covid-19. Les monocytes faisant parties des cellules clés du système inné contribuent ainsi dans sa pathogénèse. Par ailleurs, nouvellement comme mécanisme chez les monocytes, ils présentent des changements à long terme au cours de l'infection par expression de *Traps/pièges* extracellulaires ou ADN extracellulaires comme dernière ligne de défense.

Objectif : Ce projet de Mémoire repose donc, sur L'essai d'évaluation du niveau d'expression des *Traps/pièges* des MO qui pourraient être générés comme résultat lors de la seconde infection du SRAS-CoV-2.

Matériels et Méthodes : Les monocytes ont été isolés à partir de cellules mononuclées du sang périphérique (PBMCs) de donneurs volontaires sains par l'adhérence en plastique. Ces derniers ont été mis en contact deux(2) fois avec le virus atténué in vitro afin de doser l'activité de la myéloperoxydase associée à l'étose.

Mots clé : Covid-19, Monocytes, SRAS-CoV-2, *Traps/Pièges* extracellulaires monocytaires.

Abstract

Background: SARS-CoV-2 is a beta-coronavirus responsible for the Covid-19 pandemic. Monocytes, which are part of the key cells of the innate system, thus contribute to its pathogenesis. Moreover, as a new mechanism in monocytes, they exhibit long-term changes during infection through expression of extracellular traps / traps or extracellular DNA as a last line of defense.

Objective: This thesis project is therefore based on the assay to assess the level of expression of Extracellular Traps of Mo that could be generated as a result of the second infection of SARS-CoV-2.

Material and Methods : Monocytes were isolated from peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of healthy volunteer donors by the plastic adhesion. The latter were brought into contact twice (2) with the attenuated virus in vitro in order to measure the activity of the myeloperoxidase associated with etose.

Keywords: Covid-19, Monocytes, SRAS-CoV-2, Extracellular Trap of Monocytes.

ملخص

مقدمة: SARS-CoV-2 هو أحد الفيروسات التاجية بيتا المسؤولة عن جائحة جزء Covid-19، وبالتالي تساهم الخلايا الأحادية، وهي خلايا أساسية في الجهاز الفطري، في إحداث المرض. علاوة على ذلك، كآلية جديدة في الخلايا الأحادية، فإنها تظهر تغيرات طويلة المدى أثناء الإصابة بالتعبير عن *Traps/pièges* خارج الخلية أو الحمض النووي خارج الخلية كخط دفاع أخير.

الهدف: يعتمد مشروع الأطروحة هذا على الفحص لتقييم مستوى التعبير عن *Traps/pièges* monocytes التي يمكن إنشاؤها نتيجة للعدوى الثانية لـ SARS-CoV-2.

المواد والطرق: تم عزل وحيدات من خلايا الدم وحيدة النواة (PBMCs) للمتبرعين المتطوعين الأصحاء عن طريق الالتصاق البلاستيكي. تم وضع الأخير على اتصال مرتين (2) مع الفيروس الموهن في المختبر من أجل قياس نشاط إنزيم ميلوبيروكسيداز المرتبط بـ etose. **الكلمات المفتاحية:** Covid-19، Monocytes، SARS-CoV-2، *Traps/pièges* monocytes خارج الخلية.