



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
UNIVERSITE de TLEMCEEN  
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 immunologie W04144100



# MÉMOIRE

Présenté par

**Wissem Aouicha Yousra DIB**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En : Immunologie

## Thème

**iGLU monocytaire dans le contexte de Trained Immunity  
induite l'infection à SARS-COV-2**

Soutenu le *24 Juillet 2021*, devant le jury composé de :

Présidente	Dr. Nabila BRAHAMI	MCA	Université de Tlemcen
Encadrante	Dr. Maroua MILIANI	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Dr. Wafaa NOUARI	MCB	Université de Tlemcen

**Année universitaire 2020/2021**

### Résumé

**Introduction :** Les monocytes sont des cellules leucocytaires, qui orchestrent le système immunitaire inné en assurant plusieurs fonctions tels que la phagocytose, la présentation d'antigène, la réparation tissulaire, afin de pouvoir protéger l'organisme des infections bactériennes, microbiennes et virales. Récemment, des études ont montrée que les monocytes ont une certaine mémoire dite entraînée. Cette dernière est définis comme une reprogrammation fonctionnelle, où les monocytes subissent des modifications épigénétiques et métaboliques. Le glucose est l'un des métabolites clé de l'immunité innée entraînée. Les monocytes interviennent dans toutes les étapes de l'infection par un virus à ARN de la famille coronaviridae, le SARS-COV-2.

**Objectifs :** évaluer le taux de l'iGLU monocyttaire lors d'une infection par SARS-COV-2 dans le contexte de la mémoire immunitaire entraînée.

**Matériels et méthodes :** Les monocytes isolés à partir des PBMCs du sang périphérique des individus volontaires sains, ont été infectées une première et deuxième fois après 24heures par SARS-COV-2 atténué, Où le taux de l'iGLU monocyttaire a été évaluer dans les lysats monocytaires après chaque contact avec le virus atténué.

**Conclusion :** Il a été montré que les monocytes ont la capacité d'acquérir une immunité entraînée dans certaine infections. Dans ce travail on voulait voir si c'est le cas dans une infection par SARS-COV-2. En prenant les adaptations métaboliques en considération, notamment le taux du glucose intracellulaire.

**Mots clés :** Monocytes, SARS-COV-2, immunité innée entraînée, glucose intracellulaire.

### Abstract

**Introduction:** Monocytes are leukocyte cells, which orchestrate the innate immune system by performing several functions such as phagocytosis, antigen presentation, tissue repair, in order to protect the body from bacterial, microbial and viral infections. Recently, studies have shown that monocytes have a certain so-called trained memory. The latter is defined as functional reprogramming, where monocytes undergo epigenetic and metabolic changes. Glucose is one of the key metabolites for trained innate immunity. Monocytes are involved in all stages of infection with an RNA virus of the coronaviridae family, SARS-COV-2.

**Objectives:** To assess the level of monocytic iGLU during SARS-COV-2 infection in the context of trained immune memory.

**Materials and methods:** The monocytes isolated from the PBMCs of the peripheral blood of healthy volunteers were infected a first and second time after 24 hours by attenuated SARS-COV-2, where the level of the monocytic iGLU was evaluated in the Monocytic lysates after each contact with the attenuated virus.

**Conclusion:** It has been shown that monocytes have the ability to acquire immunity caused by certain infections. In this work we wanted to see if this is the case in a SARS-COV-2 infection. By taking metabolic adaptations into consideration, especially the intracellular glucose level.

**Keywords:** Monocytes, SARS-COV-2, trained innate immunity, intracellular glucose.

## الملخص

**مقدمة:** الخلية الوحيدة هي خلايا كريات الدم البيضاء ، والتي تنظم جهاز المناعة الفطري عن طريق أداء عدة وظائف مثل البلعمة ، وعرض المستضد ، وإصلاح الأنسجة ، من أجل حماية الجسم من الالتهابات البكتيرية والميكروبية والفيروسية. في الأونة الأخيرة ، أظهرت الدراسات أن الخلايا الوحيدة لديها ما يسمى بالذاكرة المدربة. يتم تعريف هذا الأخير على أنه إعادة برمجة وظيفية ، حيث تخضع الخلايا الوحيدة لتغيرات جينية وأيضية. الجلوكوز هو أحد المستقلبات الرئيسية للمناعة الفطرية المدربة. تشارك الخلايا الوحيدة في جميع مراحل الإصابة بفيروس RNA من عائلة **coravidae** ، SARS-COV-2.

**الأهداف:** لتقييم مستوى الخلية الوحيدة iGLU أثناء عدوى السارس COV-2 في سياق الذاكرة المناعية المدربة.

المواد والطرق: أصيبت الخلايا الوحيدة المعزولة من PBMCs في الدم المحيطي لمتطوعين أصحاء بالعدوى للمرة الأولى والثانية بعد 24 ساعة مع SARS-COV-2 الموهن ، حيث تم تقييم مستوى monocyte iGLU في monocyte lysates بعد كل اتصال مع الموهن. الفيروس.

**الخلاصة:** لقد ثبت أن الخلايا الوحيدة لديها القدرة على اكتساب المناعة الناتجة عن بعض أنواع العدوى. في هذا العمل أردنا معرفة ما إذا كان هذا هو الحال في عدوى SARS-COV-2. مع الأخذ بعين الاعتبار التكيفات الأيضية وخاصة مستوى الجلوكوز داخل الخلايا.

**الكلمات الأساسية:** وحيدات ، SARS-COV-2 ، مناعة فطرية مدربة ، جلوكوز داخل الخلايا.

## Avant-propos

En premier lieu, je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir guidé et donné la force et le courage d'aller jusqu'au bout de mes études.

{وَلَسَوْفَ يُعْطِيكَ رَبُّكَ فَتَرْضَى}

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Biologie Moléculaire Appliquée et d'Immunologie (BIOMOLIM), Université de Tlemcen, sous la direction du Professeur Mourad ARIBI, qui m'a accueilli au sein de son laboratoire à qui j'adresse mes sincères remerciements.

Mes vifs remerciements à mon encadrant Dr. Marwoua Miliani, maître de conférences de classe B au département de Biologie- Université de Tlemcen, d'avoir dirigée mes travaux et m'avoir apportée une aide précieuse en ces moments difficiles par ses précieux conseils et ses orientations.

Je tiens à remercier les membres du jury, d'avoir accepté d'évaluer ce travail et de me consacrer leur temps, malgré leurs obligations professionnelles

J'exprime aussi ma sincère gratitude à tous mes enseignants pour leurs soutiens et leurs conseils durant mon cursus universitaires.

Je tiens aussi à remercier toute l'équipe du Laboratoire BIOMOLIM et toute la promotion MASTER 2 immunologie 2021-2020 et toute personne qui m'a apportée son soutien de près ou de loin durant la réalisation de ce travail.

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un amour profond*

*A ma très chère mère,*

*Quoi que je dise ou que je fasse, je ne saurai point te remercier comme il se doit, Ton affection me couvre, tes prières et ta bienveillance me guident et ta présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

*A mon très cher père,*

*Le premier homme de ma vie, a qui je dois mon respect et ma réussite que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.*

*A la mémoire de mon frère,*

*Hadjou, tu nous as quitté très tôt grand frère, j'espère que tu es fier de moi la ou tu es !*

*A la mémoire de mes grands parents,*

*C'est vrai que je ne vous ai jamais connu, mais je vous porte dans mon cœur.*

*A Mima,*

*Ceci est ma profonde gratitude pour ton éternel soutien, que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir.*

*A Mes sœurs,*

*Ines ma confidente, ma lionne, Shéraz la douceur de ma vie et Hanine notre boule d'énergie, que dieu vous donne bonheur, santé et surtout réussite.*

*A Abderrahmane,*

*Mon frère, ma force et ma fierté, je te souhaite tout le bonheur du monde.*

*A ma famille, mes proches et a ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.*

*A mes amis,*

*Wissem, Hadjer et Mayssa je vous remercie pour votre soutien, l'amour que vous m'apportez à chaque fois et pour les souvenirs qu'on a pu partager ensemble.*

*Wafaa mon binôme, Mimi et Imene ma team ... nos délires vont me manquer ... on remplace jamais une équipe qui gagne !*

*Amine, je te remercie énormément pour ton aide.*

*A tous mes amis et camarades que j'ai eu la chance d'avoir pendant ce cursus et à qui je souhaite beaucoup de succès.*

*A tous ceux qui ont été une lueur d'espoir, une porte de sortie, un soleil dans l'obscurité, une raison de rester en vie à ces mains tendues, ces sourires qui remontent le moral, ces petites attentions qui ont fait, un jour ou l'autre, la différence.*

**MERCI !**

## Table des matières

Résumé	II
Abstract	III
Résumé en Arabe	IV
Avant-propos	V
Table des matières	VI
Liste des tableaux	VII
Liste des figures	VIII
Abréviations	IX
Introduction	1
1. Monocyte .....	2
1.1 Généralités.....	2
1.2 Monocytopèse : .....	2
1.3 Sous population .....	4
1.4 Principaux marqueurs de surface des sous-ensembles de monocytes et leurs niveaux d'expression.....	7
1.5 Cytokines .....	9
2. Trained immunity .....	10
3. Glucose le métabolite clé .....	13
4. Covid 19 .....	15
4.1 Origine et historique : .....	15
4.2 Épidémiologie.....	15
4.2.1 Origine et évolution.....	15
4.2.2 Réservoir .....	17
4.2.3 Transmission.....	18
4.2.4 La période d'incubation .....	19
4.2.5 Âge et sexe .....	19
4.2.6 Facteurs de risque .....	19
4.3 Propriétés virales .....	19
4.3.1 Taxonomie .....	19
4.3.2 Structure .....	20
4.3.3 Protéines.....	21

## Table des matières

---

4.3.4	Génome.....	24
4.3.5	La réplication et pathogenèse.....	25
5.	SARS-CoV-2 et monocyte.....	29
5.1	Enzyme de conversion de l'angiotensine 2.....	29
5.2	Tempête de cytokines.....	30
5.3	Coagulation.....	30
6.	Problématique et objectifs.....	30
6.1	Problématique.....	30
6.2	Objectif.....	31
6.3	But.....	31
1.	Déclaration éthique.....	32
2.	Conception de l'étude.....	32
3.	Isolation des MO et culture cellulaire.....	32
4.	Lyse des MOs.....	34
5.	Dosage des niveaux d'iGlu.....	34
5.1	Principe de la méthode.....	34
	Chapitre 3 : Résultats.....	36
	Chapitre 4: Discussion.....	38
	Chapitre 5: Conclusion.....	39
	Chapitre 6: Bibliographie.....	41

**Tables des tableaux**

<b>Tableau 1.1</b>	<b>Principaux marqueurs de surface des sous-ensembles de monocytes et leurs niveaux d'expression.....</b>	<b>8</b>
<b>Tableau 1.2</b>	<b>Cytokines produites par différents sous-types de monocytes en mettant en évidence les divergences constatées dans la littérature.....</b>	<b>9</b>
<b>Tableau 1.3</b>	<b>Protéines non structurales (NSPs) du poly-protéines du SARS-CoV-2</b>	<b>22</b>
<b>Tableau 1.4</b>	<b>Protéines accessoires et leurs rôles .....</b>	<b>24</b>

### Liste des figures

<b>Figure 1.1</b>	Voies de monocytopoèse	<b>4</b>
<b>Figure 1.2</b>	Diversité des fonctions des monocytes dans des conditions physiologiques et pathologiques	<b>7</b>
<b>Figure 1.3</b>	Immunité entraînée centrale et périphérique	<b>12</b>
<b>Figure 1.4</b>	Glycolyse aérobie dans le monocyte activé entraîné	<b>14</b>
<b>Figure 1.5</b>	Distribution mondiale des cas confirmés de COVID-2, au 15 mars	<b>16</b>
<b>Figure 1.6</b>	Répartition géographique des cas de COVIS en Algérie (13Août 2020)	<b>17</b>
<b>Figure 1.7</b>	Origines et hôtes intermédiaires du SARS-COV-2	<b>18</b>
<b>Figure 1.8</b>	Classification des coronavirus	<b>20</b>
<b>Figure 1.9</b>	Représentation schématique du structure du SARS-COV-2	<b>21</b>
<b>Figure 1.10</b>	Illustration du génome complet du SARS-COV-2	<b>25</b>
<b>Figure 1.11</b>	Représentation schématique du mécanisme d'entrée du virus SARS-COV-2	<b>26</b>
<b>Figure 1.12</b>	Transcription discontinue	<b>27</b>
<b>Figure 1.13</b>	Etapas du cycle virale du coronavirus	<b>28</b>
<b>Figure 2.1</b>	Préparation des cellules	<b>34</b>

### Abréviation

#### A

**ACE** *Enzyme de conversion de l'angiotensine*

#### B

**BAL** *Lavage broncho-alvéolaire.*

#### C

**CMP** *Progéniteurs myéloïdes communs.*

**cMoP** *Progéniteurs de monocytes communs.*

**CDP** *Précurseurs de cellules dendritiques.*

**CDC** *Centre chinois de contrôle et de la prévention des maladies.*

**CCL** *cc Chemokine Ligand*

**Cycline-CDK** *Complexe cycline-cycline-kinase.*

**CD** *Cluster de différenciation*

**CCR** *cc chemokine receptor*

## Abréviations

---

<b>CXCR</b>	<i>Chemokine (C-X-C motif) Receptor</i>
<b>CX3CR</b>	<i>chemokine (C-X3-C motif) Receptor</i>
<b>D</b>	
<b>dsRNA</b>	<i>ARN double brin.</i>
<b>DAMP</b>	<i>Modèle moléculaire associé aux dommages.</i>
<b>E</b>	
<b>E</b>	<i>Enveloppe.</i>
<b>EDTA</b>	<i>Ethylènediaminetétraacétique</i>
<b>F</b>	
<b>Fc</b>	<i>Fragment du complément.</i>
<b>FCS</b>	<i>Sérum foetal de veau</i>
<b>G</b>	
<b>G-CSF</b>	<i>Granulocyte- Colony-Stimulating Factor GMP</i>
<b>GLUT</b>	<i>Transporteur de glycose.</i>

## Abréviations

---

**GOD** *Enzyme glucose oxydase*

**H**

**HR 1,2** *Heptad repeat 1,2.*

**HLA** *Human Leukocyte Antigen*

**I**

**ISPP** *Urgence de santé publique de portée internationale.*

**ICTV** *Commission internationale de Taxonomie des virus.*

**iMO** *Monocytes inflammatoires.*

**IL** *Interleukine*

**L**

**LPS** *Lipopolysaccharides.*

**M**

**MPS** *Système phagocytaire mnonucléaire.*

## Abréviations

---

<b>Mo</b>	<i>Moelle osseuse.</i>
<b>MDP</b>	<i>Progéniteurs de macrophage et cellules dendritique.</i>
<b>MP</b>	<i>Précurseurs des monocytes.</i>
<b>M</b>	<i>Membrane.</i>
<b>N</b>	
<b>N</b>	<i>Nucleocapside.</i>
<b>NSPs</b>	<i>Poly-proteines du SARS-COV-2 non structurelle.</i>
<b>O</b>	
<b>OMS</b>	<i>Organisation mondiale de la santé.</i>
<b>P</b>	
<b>PAMP</b>	<i>Modèle moléculaire associé aux agents pathogènes.</i>
<b>PBMCs</b>	<i>Cellules mononuclées du sang périphérique</i>
<b>PBS</b>	<i>Saline isotonique tamponnée au phosphate</i>
<b>PHB 1,2</b>	<i>Prohibitin 1,2.</i>

## Abréviations

---

<b>POD</b>	<i>Peroxydase</i>
<b>P2RX</b>	<i>Purinergic Receptor P2X1</i>
<b>R</b>	
<b>ROS</b>	<i>Espèce réactive de l'oxygène.</i>
<b>R0</b>	<i>Taux de reproduction.</i>
<b>RTC</b>	<i>Complexe réplication – Transcriptase</i>
<b>RdRp</b>	<i>ARN polymérase ARN-dépendante.</i>
<b>RER</b>	<i>Réticulum endoplasmique rugueux.</i>
<b>S</b>	
<b>SARS-COV-2</b>	<i>Syndrome aigue severe lié au syndrome respiratoire.</i>
<b>S</b>	<i>Spike.</i>
<b>Siglec</b>	
	<i>Sialic Acid Binding Immunoglobuline like Lectine</i>
<b>SLAN</b>	<i>6-Sulfo LacNac</i>

## Abréviations

---

**SRAA**

*Système rénine-angiotensine-aldostérone.*

**SRC**

*Syndrome de libération de cytokine.*

**SVF**

*Sérum bovin foetal*

**T**

**TBET**

*Bleu trypan*

**TCA**

*Cycle de l'acide tricarboxylique.*

**TMPRSS2**

*Serine-protéase de surface cellulaire.*

**TNFR**

*Tumor Necrosis Factor Receptor*

**TNF**

*Tumor Necrosis Factor*

**Tie**

*Tyrosine Kinase with immunoglobuline like and EGF like domain*

**TLR**

*Toll like Receptor*

### Introduction

Les monocytes sont des cellules du système immunitaire inné (Jakubzick et *al.* 2017 ) qui participent aux réponses inflammatoires, à la phagocytose, à la présentation des antigènes et à divers autres processus immunitaires , tout en reliant le système inné et adaptatif (Kiefer et *al.*, 2021). Les monocytes classiques (CD14 + CD16 - ), intermédiaires (CD14 + CD16 + ) et non classiques (CD14 - CD16 + ) sont les sous types des monocytes, une classifications basé sur le taux d'expression relative de CD14 et CD16 (Pence, 2020). Les monocytes matures dérivés des précurseurs dans la moelle osseuse, rejoignent la circulation sanguine avec une demi-vie de 1 à 2 jours et extravasent dans les tissus périphériques pour se différencier en macrophage ou cellules dendritiques (Trzebanski and Jung, 2020).

Par ailleurs, les monocytes subissent des modifications épigénétiques et métaboliques lors des infections. Les intermédiaires métaboliques peuvent agir comme substrats, cofacteurs ou inhibiteurs des enzymes modifiant la chromatine (Penkov et *al.*, 2019). Récemment, plusieurs études ont montré que les cellules de l'immunité innée possèdent une mémoire appelée immunité entraînée notamment pour les monocytes (Netea et *al.*, 2020). Elle est définie comme une reprogrammation fonctionnelle à long terme (Netea et *al.*, 2020), dont les changements métaboliques sont la base physiologique (Geller and Yan, 2020; Zhong et *al.*, 2020). L'immunité entraînée n'est pas seulement spécifique de l'antigène qui a induit la réponse primaire, mais elle est plutôt une réponse améliorée non spécifique à des stimulus hétérologues (van Splunter et *al.*, 2018). Parmi les changements métaboliques, le taux de glucose peut être une clé dans l'immunité entraînée, car le glucose est considéré comme source importante d'énergie (Codo et *al.*, 2020).

Le 31 décembre 2019, une pandémie mondiale a été signalée pour la première fois, dont l'origine est le virus coronavirus-2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS CoV-2), (Yoshimoto, 2020). Un virus de la famille *Coronaviridae*, à ARN sphérique (Chan et *al.*, 2020; Jamai Amir et *al.*, 2020). L'infection par ce virus présente un risque d'évolution clinique grave en raison d'un syndrome inflammatoire dérégulé (Moore and June, 2020). Cette infection est caractérisée par une tempête de cytokines, un syndrome de détresse respiratoire aiguë, et dans certains cas une inflammation systémique–pathologie associé, ou les principaux responsables de ces caractéristiques sont les monocytes (Martinez et *al.*, 2020; Pence, 2020).

Dans cette optique, ce mémoire de master a pour objectif d'évaluer l'iGLU monocyttaire au cours de l'infection à SARS-CoV2 dans le contexte de l'immunity entraînée.

### Chapitre 1 : Revue de littérature

#### 1. Monocyte

##### 1.1 Généralités

La découverte du microscope au XIX<sup>e</sup>, et le développement des colorants cytologiques a permis au Paul Ehrlich, de classer des globules blancs en leucocytes mononucléés (Guilliams et *al.*, 2018a).

En 1891, Ehrlich décrit les monocytes comme des «formes de transition» dans le sang (Radzun, 2015). C'est qu'en 1910, que le terme «monocyte » a été introduit par Artur Pappenheim. La définition des monocytes est devenue appliquée plus exclusivement aux cellules transitionnelles d'Ehrlich (Guilliams et *al.*, 2018a).

Les monocytes sont des cellules du système immunitaire inné, qui représentent ~10% des cellules sanguines nucléées (Cormican and Griffin, 2020; Pence, 2020). Les monocytes sanguins ont un noyau bilobé et un cytoplasme minime dépourvu de granules (Kitamura et *al.*, 2018). Ils constituent l'un des composants du «système phagocytaire mononucléaire» (MPS), en le partageant avec les macrophages et les cellules dendritiques conventionnelles (cDC) (Guilliams et *al.*, 2018a). Les monocytes matures dérivés des précurseurs dans la moelle osseuse, rejoignent la circulation sanguine avec une demi-vie de 1 à 2 jours avant de migrer dans divers tissus pour reconstituer les macrophages (Kiefer et *al.*, 2021; Trzebanski and Jung, 2020).

Les monocytes relient le système inné et adaptatif, en participant aux réponses inflammatoires, à la phagocytose, à la présentation de l'antigène et à divers autres processus de la fonction immunitaire (Kiefer et *al.*, 2021; Pence, 2020). Grâce à des réponses directes les monocytes jouent un rôle clé dans l'immunité antimicrobienne, notamment la reproduction des cytokines, en plus de réguler d'autres cellules du système immunitaire inné et adaptatif (Cormican and Griffin, 2020).

##### 1.2 Monocytopèse :

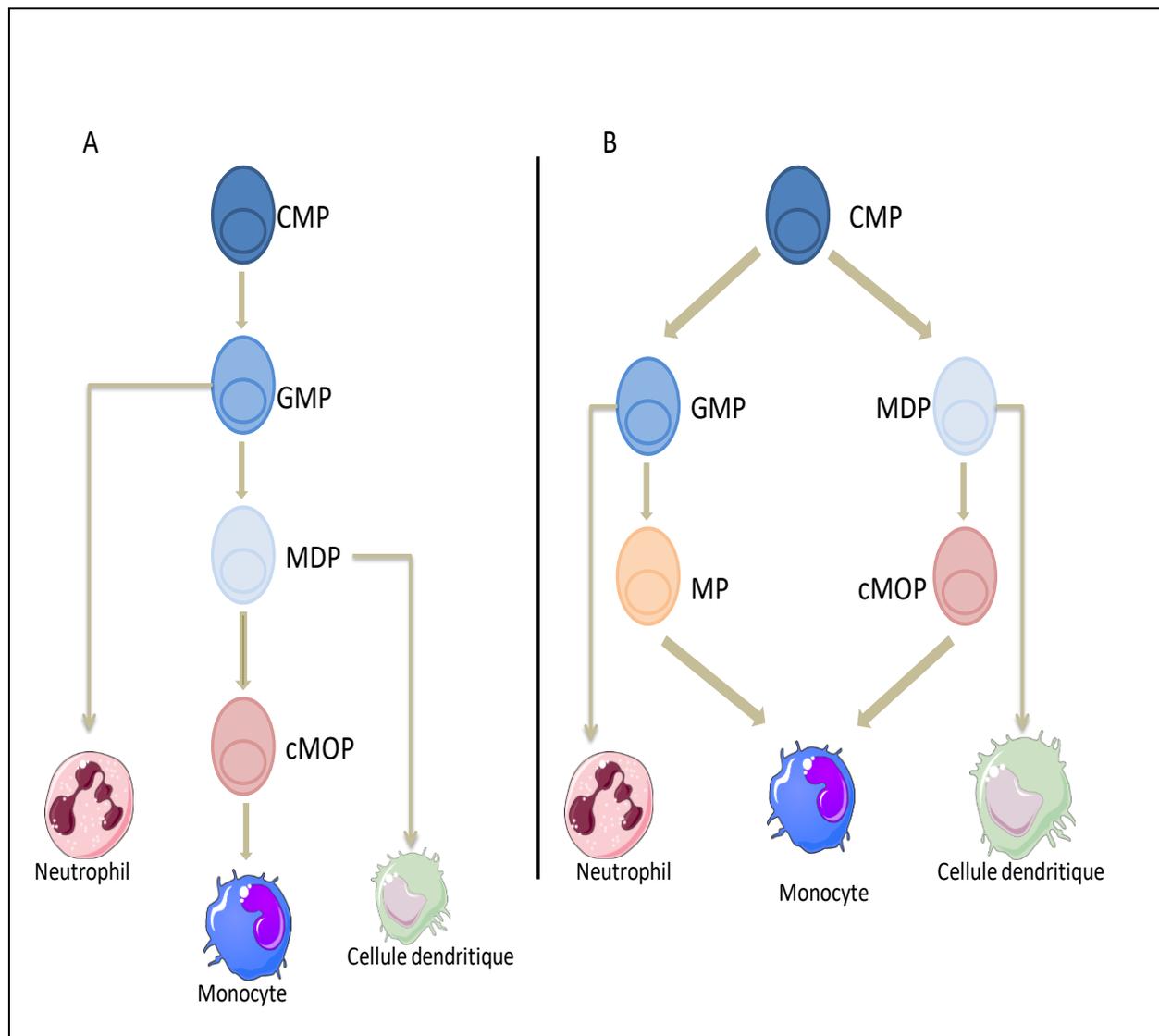
Les progéniteurs de la lignée monocyte sont présents dans la moelle osseuse, le sang et la rate (Raybarman and Bhattacharjee, 2020). Une division asymétrique des cellules hématopoïétiques (CSH), donne naissance aux progéniteurs myéloïdes communs (CMP) par un certain nombre d'intermédiaires pluripotents. Les CMPs se différencient en progéniteurs de granulocytes et de macrophages dédiés à la lignée myéloïde (GMP)

(Trzebanski and Jung, 2020), ainsi qu'en progéniteurs de macrophages et de DC (MDP) qui constituent une lignée sélectionnée de GMP (Trzebanski and Jung, 2020). Les MDPs peuvent être caractérisées par l'expression du récepteur du facteur 1 stimulant les colonies (CD115) et qui donnent à leur tour deux populations distinctes de cellules, la population de progéniteurs de monocytes commun (cMoPs) et la population des précurseurs de cellules dendritiques communs (CDPs) (Raybarman and Bhattacharjee, 2020; Patel et al., 2017).

Longtemps les chercheurs considéraient le MDP comme le seul progéniteur de monocytes dans la moelle osseuse (Liu et al., 2019; Trzebanski and Jung, 2020) (Figure 1.1A). Alors que récemment des données suggèrent que le GMP et le MDP peuvent donner naissance à des monocytes (Figure 1.1B). De plus, les disparités dans les transcriptomes suggèrent que les monocytes résultants des MDPs ou des GMPs diffèrent en fonction de leur origine (Weinreb et al., 2020; Yáñez et al., 2017).

Dans la moelle osseuse l'ontogénie exacte des monocytes reste quelque peu contradictoire et énigmatique. (Trzebanski and Jung, 2020; Yáñez et al., 2017). Des expériences de transfert adoptif de MDP et de cMoP dans des hôtes congéniques, étaient la base de définir les MDPs comme les seuls précurseurs engagés dans les monocytes. Le précurseur des monocytes (MP) est impliqué dans une voie alternative générée par laquelle les GMPs donnent naissance à des monocytes a été proposée. Il est à noter cependant que le cMoP et le MP ne peuvent actuellement être distingués que transcriptionnellement et non discriminés par des marqueurs de surface (Yáñez et al., 2015, 2017).

Les MDPs ne proviennent pas des GMPs mais les monocytes peuvent provenir de ces deux progénitures, des stimulus distincts ont donné de manière différente des monocytes provenant de GMP ou MDP. Donc, dans des conditions pathologiques et de différences fonctionnelles dépendant de ligné, une monopoïèse alternative pourrait être impliquée (Yáñez et al., 2017).



**Figure 1.1. Voies de monocytopoese. d'après (Trzebanski and Jung, 2020).** Les monocytes peuvent provenir des GMPs et des MDPs chez l'homme. CMP : progéniteurs myéloïdes communs, GMP : progéniteurs de granulocytes et macrophages, MP : précurseur des monocytes, MDP : progéniteurs de macrophages et de DC, cMoP : progéniteur de monocytes commun.

### 1.3 Sous population

Les monocytes humains forment un type de cellules hétérogène constitué de sous-populations phénotypiquement et fonctionnellement distinctes (Lund et al., 2016). Ils sont traditionnellement divisés en 3 populations, basés sur des différences d'expression de CD14 et CD16, codant pour le récepteur lipopolysaccharidique et le récepteur FC de faible affinité, respectivement (Thomas et al., 2017).

La diversité des monocytes est bien reconnue mais la signification biologique et clinique des différents sous-types de monocytes est loin d'être complètement élucidée (Canè et al.,

2019). Durant l'homéostasie et dans des conditions pathologiques, chaque sous-population peut avoir un rôle différent (Ożańska et *al.*, 2020). La principale caractéristique des monocytes est leur nature plastique, grâce à laquelle ils peuvent exercer plusieurs rôles au cours de la réponse immunitaire (Figure 1.2) (Guilliams et *al.*, 2018b).

### 1.3.1.1 Monocyte classique (CD14<sup>++++</sup> CD16<sup>--</sup>)

Les monocytes classiques aussi appelées « monocytes inflammatoires (iMo) », comprennent environ 80 à 95% des monocytes circulants et ont une taille de 18µm (Sampath et *al.*, 2018). Ils sont caractérisés par l'expression élevée du récepteur de chimiokine CCR2 et ils sont libérés à plusieurs reprises de la moelle osseuse dans la circulation (Canè et *al.*, 2019).

Les monocytes classiques se différencient peu en macrophages et surtout en cellules dendritiques (Sampath et *al.*, 2018). Les gènes exprimés par les monocytes classiques déterminent la présence de récepteurs scavengers et de récepteurs de lectine de type C (Ożańska et *al.*, 2020).

#### 1.3.1.1.1 Fonctions

Les monocytes classiques sont hautement phagocytaires et sont connues pour être d'importantes cellules piègeuses. Ces cellules sont impliqués dans différentes fonctions, telles que la réparation tissulaire et la réponse immunitaire, la cicatrisation et la coagulation des plaies (Sampath et *al.*, 2018).

Les monocytes classiques présentent des fonctions anti-apoptotiques et des réactions aux stimuli. Ils soutiennent également l'inflammation en exprimant les protéines S-100 pro-inflammatoires, tels que la protéine S100A12 et S100A8/9 (Ożańska et *al.*, 2020).

### 1.3.1.2 Monocyte intermédiaire (CD14<sup>+++</sup> CD16<sup>++</sup>)

Les monocyte intermédiaire ont une taille intermédiaire, représentent environ 2 à 8% des monocytes circulants (Sampath et *al.*, 2018). Ils expriment des niveaux plus élevés de marqueurs de surface impliqués dans les interactions cellules présentatrices d'antigène-cellules T (Ożańska et *al.*, 2020; Sampath et *al.*, 2018). La population des monocytes intermédiaires est non homogène, elle a le potentiel de se différencier en certains macrophages et occasionnellement en cellules dendritiques (Sampath et *al.*, 2018)

### 1.3.1.2.1 Fonctions

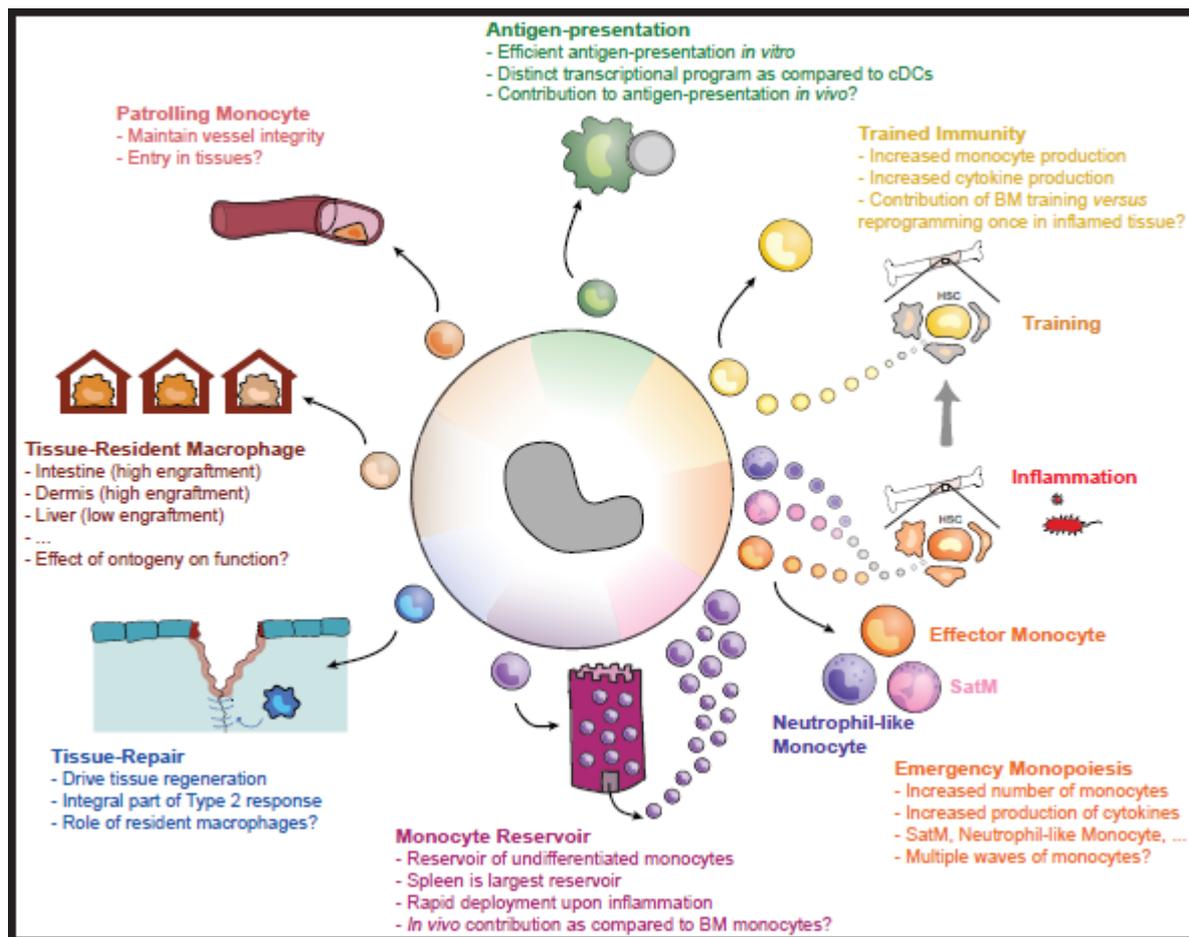
Les monocytes intermédiaires assurent la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), la présentation de l'antigène et ils présentent un degré élevé de maturation du CMH de classe II et de présentation des gènes. Les monocytes intermédiaires sont responsables de la prolifération et de la stimulation des cellules T. Ils expriment des niveaux élevés de marqueurs de surface impliqués dans les interactions entre les cellules présentatrices d'antigènes et les cellules T, tel que le CD40 et le CD54 (Ożańska et *al.*, 2020; Sampath et *al.*, 2018).

### 1.3.1.3 Monocyte non classique (CD14<sup>-</sup> CD16<sup>++</sup>)

Les monocytes non classiques ont une taille de 14µm, représentent environ 2 à 11% des monocytes circulants. Ils parcourent l'endothélium à la recherche de blessures grâce à leur nature mobile. Ils peuvent avoir un comportement pro-inflammatoire et sécréter des cytokines inflammatoires en réponse à une infection (Sampath et *al.*, 2018). Les gènes de ce type de monocyte définissent également les composants du complément et les capacités pro-apoptotiques. (Ożańska et *al.*, 2020). Les monocytes non- classiques se différencient majoritairement en macrophages (Sampath et *al.*, 2018).

#### 1.3.1.3.1 Fonctions

Les monocytes non classiques sont responsables de la prolifération et de la stimulation des lymphocytes T CD4<sup>+</sup>, grâce à l'expression de SLAN (*6-Sulfo LacNac*) (Lastrucci et *al.*, 2015). Ils sont plus susceptibles de stimuler la production d'IL-4 par les cellules T CD4<sup>+</sup>. Ils expriment les gènes liés à la mobilité du cytosquelette (Ożańska et *al.*, 2020).



**Figure 1.2. Diversité des fonctions des monocytes dans des conditions physiologiques et pathologiques (Guilliams et al., 2018b).** Les monocytes peuvent se greffer dans des réservoirs de monocytes périphériques ou peuvent se différencier en monocytes non classiques ou en macrophages résidents dans les tissus à l'état d'équilibre. Les monocytes peuvent également acquérir des capacités inflammatoires, régénératrices ou de présentation d'antigènes lorsqu'ils pénètrent dans des tissus enflammés. Une inflammation sévère peut conduire à une monopoïèse d'urgence avec la production de nouveaux sous-ensembles de monocytes avec des caractéristiques fonctionnelles altérées. L'inflammation peut avoir des effets à long terme sur l'hématopoïèse et entraîner une immunité entraînée associée à une production accrue de monocytes produisant plus de cytokines inflammatoires.

#### 1.4 Principaux marqueurs de surface des sous-ensembles de monocytes et leurs niveaux d'expression

Les monocytes subissent dans des conditions de maladie des changements fonctionnels qui sont détectables par une expression différentielle des marqueurs de surface. Il ya des marqueurs qui augmentent tant dit que d'autres diminuent (Marimuthu et al., 2018).

En outre, l'immunophénotypage des sous-ensembles de monocytes a montré une expression différentielle des marqueurs de surface, avec une expression plus élevée de CD11b et CD62L sur les sous-ensembles classiques et intermédiaires et une expression

## Chapitre 1 : Revue de littérature

plus élevée de CD11c et CX3CR1 sur le sous-ensemble non classique (Tableau 1.1) (Boyette et *al.*, 2017).

**Tableau 1.1 Principaux marqueurs de surface des sous-ensembles de monocytes et leurs niveaux d'expression, D'après (Boyette et *al.*, 2017; Ożańska et *al.*, 2020; Sampath et *al.*, 2018; Ziegler-Heitbrock, 2015).** ACE : Enzyme de conversion de l'angiotensine, CD: Cluster de différenciation, HLA : Human Leukocyte Antigen, CCR : cc chemokine receptor, CXCR : Chemokine (C-X-C motif) Receptor, CX3CR : chemokine (C-X3-C motif) Receptor, TNFR : Tumor Necrosis Factor Receptor, IL : Interleukine, Tie : Tyrosine Kinase with immunoglobuline like and EGF like domain, Siglec : Sialic Acid Binding Immunoglobuline like Lectine, SLAN : 6-Sulfo LacNac, P2RX : Purinergic Receptor P2X1, TLR : Toll like Receptor.

Marqueurs et genes	Monocytes classiques	Intermédiaires	Non-classiques
ACE	+	++	+
CD14	++	++	+
CD16 (FcγRIII)	-	+	+
CD64 (FcγRI)	++	++	+/-
CD86	+	+++	++
HLA-AB	++	+++	+
HLA-DR	+/-	+++	++
CCR1	++	+	-
CCR2 (CD192)	++	-	-
CCR5 (CD195)	+	++	-
CXCR1	+++	+/-	-
CXCR2	+++	+/-	-
CX3CR1	-	++	++
CD62L	++	-	-
TNFR1	+	++	-
TNFR2	-	+	++
IL-13Rα1	+	-	-
Tie-2 (CD202B)	-	+	+/-
Siglec10	-	+	+
CD43	--	+	++
SLAN (subpopulation)	+	+/-	+++
CD123	+/-	++	+++
P2RX1	+/-	++	+++
CD40	+/-	+++	++

CD11b	+	+	++
CD115	+	++	+++
CD9	+++	++	+/-
CD36	+++	+++	+/-
CD99	+++	+	+/-
CD163	++	+++	+/-
TLR2	+	+	+
TLR4	+	+	+

## 1.5 Cytokines

Les cytokines sont de petites protéines de signalisation solubles d'un poids moléculaire compris entre 6 à 7 KDa, qui régulent un large éventail de fonctions biologiques, notamment l'immunité innée et acquise, l'inflammation, la réparation et l'hématopoïèse (Zhang and An, 2007).

Nombreuses infections aiguës et cytokines induisent la production et la mobilisation des populations de monocytes de la moelle osseuse. Des populations considérées généralement comme pro-inflammatoire et avec une gamme d'activités antimicrobiennes (Al-Samkari and Berliner, 2018), sont recrutées sur des sites d'inflammation ou elles produisent une tempête de cytokine et peuvent répondre aux modèles moléculaires associés aux agents pathogènes (PAMP) et aux modèles moléculaires associés aux dommages (DAMP) où bien dans les nombreux modèles expérimentaux tels que l'activation avec de fortes doses de lipopolysaccharides (LPS) (Mangalmurti and Hunter, 2020).

Dans une expérience menée par Boyette et *al.*, des sous-ensembles de monocyte ont été isolés et stimulés avec des agonistes des récepteurs de type Toll 1 à 9. Ces derniers étaient distincts par leur sécrétion d'IL-1 $\beta$ , d'IL-6 et de TNF $\alpha$ . Les monocytes intermédiaires ont produit des niveaux de TNF $\alpha$  comparables aux monocytes classiques en réponse à tous les stimulants. De même, la sécrétion d'IL-6 par le sous-ensemble classique était plus élevée que les autres sous-ensembles (Tableau 1.2), en particulier en réponse à la flagelline, une protéine bactérienne qui se lie via TLR5 (Boyette et *al.*, 2017).

**Tableau 1.2 Cytokines produites par différents sous-types de monocytes en mettant en évidence les divergences constatées dans la littérature (Ożańska et *al.*, 2020). ND :**

No data (pas de données) TNF : Tumor Necrosis Factor, IL : Interleukine, CCL : cc Chemokine Ligand, G-CSF : Granulocyte- Colony-Stimulating Factor.

Cytokines	Monocytes Classiques	Monocytes Intermédiaires	Monocytes Non - classiques
TNF- $\alpha$	ND	Elevée,intermédiaire, basse	Elevée, basse
IL-1 $\beta$	ND	Elevée,intermédiaire, basse	Elevée, basse
IL-6	Élevée, intermédiaire	Élevée,intermédiaire, basse	Elevée, intermédiaire
IL-8	Intermédiaire	Intermédiaire	Intermédiaire, basse
IL-10	Elevée	Elevée, basse	Basse
CCL2	Elevée	Basse	Basse
CCL3	ND	ND	Basse
G-CSF	Elevée	Basse	Basse

## 2. Trained immunity

La mémoire immunitaire a été classiquement considérée comme présente que dans les cellules du système immunitaire adaptatif, au cours des dernières années, il est devenu de plus en plus clair que les cellules immunitaires innées ont également une mémoire (Riksen and Netea, 2021).

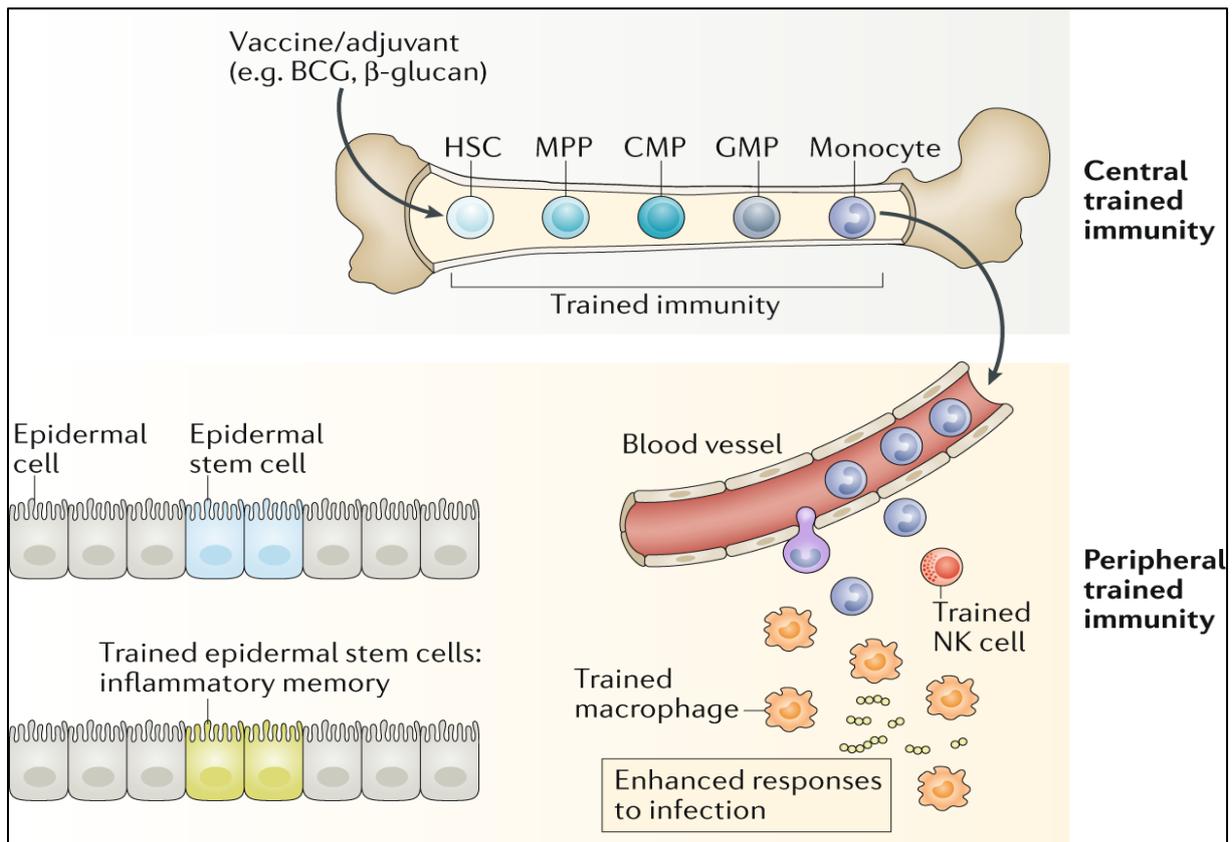
L'état d'activation modifié des monocytes et des cellules dérivées de monocytes reste efficace même des semaines après l'élimination du pathogène. Ce phénomène est bien connu sous le nom d'« immunité innée entraînée » (van der Heijden et al., 2018; Netea and van der Meer, 2017).

L'immunité entraînée est décrite comme une reprogrammation fonctionnelle à long terme des cellules immunitaires innées. Elle est provoquée par des infections exogènes ou endogènes, caractérisée par une réponse plus efficace à un deuxième contact (Netea et al., 2020). Contrairement à la mémoire immunitaire adaptative, l'immunité entraînée est une réponse améliorée non spécifique à des stimuli hétérologues (van Splunter et al., 2018).

L'inflammation induite par l'infection peut imposer des effets à long terme sur l'hématopoïèse entraînant une hématopoïèse entraînée. Il y a une augmentation soutenue de la production de monocytes qui possèdent des capacités plus élevées pour offrir une immunité protectrice et conférer une protection non spécifique contre les infections secondaires (Raybarman and Bhattacharjee, 2020).

Initialement, il a été démontré que l'immunité entraînée agissait par le biais des cellules myéloïdes matures (Netea et al., 2020). Jusqu'à récemment, cette hypothèse a donné lieu à une énigme, car les cellules myéloïdes matures, comme les monocytes et les CD( cellules dendritiques), chez les humains, ont une courte durée de vie, avec une demi-vie moyenne de 5 à 7 jours (Rieckmann et al., 2016). Par ailleurs, la manière dont l'immunité entraînée peut être maintenue dans les cellules myéloïdes pendant plusieurs mois, années et même décennies (Patel et al., 2017), demeurait inconnue. Des études plus récentes ont résolu cette question en révélant que l'immunité entraînée peut se produire dans les cellules progénitrices de la moelle osseuse, elle est dite immunité entraînée centrale, ainsi que dans les monocytes sanguins et les macrophages tissulaires, appelée immunité entraînée périphérique(Figure 1.3) (Netea et al., 2020).

Il a en effet été observé, que les effets de l'immunité entraînée peuvent durer des semaines, voire des mois, ce qui a conduit à se demander si l'administration d'un agent d'entraînement tel que le  $\beta$ -glucane avait un impact sur la moelle osseuse qui peut conduire à un phénotype immunité entraînée plus durable ou si les cellules de la périphérie étaient elles-mêmes entraînées (Geller and Yan, 2020). Mais, même en tenant compte de cela, l'immunité entraînée est de plus courte durée que la mémoire immunologique adaptative classique, dite généralement réversible (Dominguez-Andres and Netea, 2019; Netea et al., 2016).



**Figure 1.1 Immunité entraînée centrale et périphérique (Netea et al., 2020).** Bien que l'immunité entraînée ait d'abord été établie dans les cellules de la lignée des phagocytes mononucléés (c'est-à-dire les monocytes et les macrophages), les monocytes ont une durée de vie relativement courte et sont peu susceptibles de transmettre leur phénotype de mémoire à leur progéniture et de fournir une protection durable. Ainsi, les stratégies vaccinales actuelles qui ciblent directement les monocytes ou les macrophages peuvent avoir une capacité limitée à générer une mémoire immunitaire innée soutenue. En revanche, les cellules souches hématopoïétiques (CSH) sont des cellules à longue durée de vie dotées de propriétés d'auto-renouvellement qui résident dans la moelle osseuse. La moelle osseuse est le site de l'hématopoïèse où les CSH subissent continuellement une division asymétrique donnant naissance au répertoire complet des types de cellules myéloïdes et lymphoïdes. Les CSH peuvent répondre directement aux infections aiguës et chroniques. Bien que les mécanismes exacts de la prolifération ou de la différenciation des précurseurs ne soient pas bien compris, l'activation persistante des CSH peut entraîner leur épuisement, entraînant des effets dévastateurs sur le compartiment immunitaire systémique. Les monocytes dérivés de CSH entraînées migrent vers les organes périphériques, où ils donnent naissance à des macrophages dérivés des monocytes avec des fonctions effectrices améliorées contre différents types d'agents pathogènes. Les cellules tueuses naturelles (NK) possèdent des caractéristiques immunitaires adaptatives après une infection. Lors de la réinfection, ces cellules NK mémoire subissent une expansion secondaire et peuvent dégranuler et libérer plus rapidement des cytokines, entraînant une réponse immunitaire plus protectrice. Les cellules souches épithéliales présentent des fonctions de mémoire au cours d'une maladie inflammatoire allergique humaine, affichant des changements dans l'accessibilité de la chromatine lorsque le stimulus est retiré. BCG, bacille Calmette-Guérin ; CMP, progéniteur myéloïde commun ; GMP, progéniteur granulocyte-macrophage ; MPP, géniteur multipotent.

Les modifications épigénétiques de l'immunité entraînée ont été associées à la reprogrammation métabolique des cellules immunitaires innées. Les intermédiaires métaboliques peuvent agir comme substrats, cofacteurs ou inhibiteurs des enzymes

modifiant la chromatine (Penkov et *al.*, 2019). Le processus de formation des monocytes est facilité par ces changements tels que les modifications d'histones des gènes codant pour les cytokines pro-inflammatoires tels que l'IL-6 et le TNF et les gènes de la voie mTOR (Raybarman and Bhattacharjee, 2020). Les adaptations épigénétiques et métaboliques à long terme, sont la base physiologique de l'immunité innée entraînée (Zhong et *al.*, 2020). Ce lien bien documenté entre le métabolisme énergétique cellulaire et les modifications épigénétiques suggère que la reprogrammation métabolique des cellules immunitaires peut réguler la plasticité phénotypique et fonctionnelle de ces cellules (Penkov et *al.*, 2019). Par ailleurs, plusieurs études ont montré que les cytokines tels que IL-1, l'IFN- $\gamma$ , l'IL-1 $\beta$  et l'IL-32 jouent un rôle dominant dans l'immunité entraînée (Mantovani et *al.*, 2019).

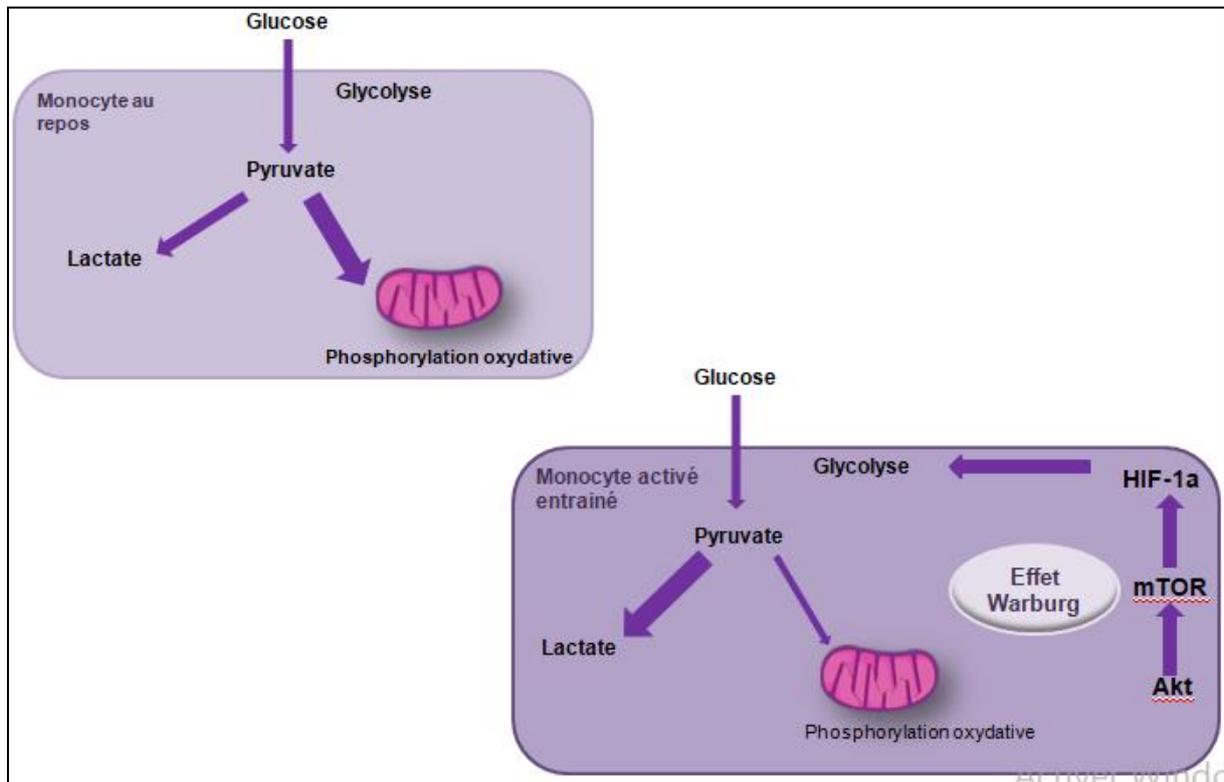
Les changements métaboliques sont une caractéristique importante de la mémoire de l'immunité innée, car les enzymes épigénétiques, qui modifient la chromatine sont régulés par les métabolites de l'énergie vitale (Geller and Yan, 2020). Parmi les caractéristiques clés de l'immunité innée entraînée, est le passage métabolique de la phosphorylation oxydative vers la glycolyse aérobie, médiée par la voie AKT/mTOR/HIF1 $\alpha$  (Cheng et *al.*, 2014).

### 3. Glucose le métabolite clé

Les cellules immunitaires innées, comme toutes les autres cellules ont besoin de plusieurs voies métaboliques pour exécuter leurs divers rôles, répondre aux micro-environnements changeants, et également pour effectuer des fonctions importantes dans le développement de la mémoire immunitaire innée (Codo et *al.*, 2020). Le glucose est la principale source d'énergie des cellules (Belhassena et *al.*, 2020). Il est transporté à l'intérieur des MO par des transporteurs de glucose (GLUT) qui comprennent trois isoformes : GLUT1, GLUT2 et GLUT3 (Vrhovac and Breljak). Une fois à l'intérieur des cellules, le glucose peut être oxydé par glycolyse pour produire de l'ATP et un certain nombre d'autres métabolites (Breda et *al.*, 2019).

L'activation des monocytes implique des fonctions effectrices et un passage simultané du métabolisme oxydatif au métabolisme glycolytique qui est caractérisé par une augmentation de l'expression des transporteurs de glucose (Cheng et *al.*, 2014). Cette augmentation du métabolisme glycolytique est également observée dans l'immunité entraînée des monocytes, une forme de mémoire immunologique innée (Palmer et *al.*, 2016). Les changements dans le

métabolisme cellulaire, avec un passage de la phosphorylation oxydative à la glycolyse aérobie (effet Warburg), sont cruciaux pour l'induction de l'immunité entraînée induite par les  $\beta$ -glucanes (Figure 1.4) (Arts et *al.*, 2016).



**Figure 1.4. Glycolyse aérobie dans le monocyte activé entraîné, D'après (Arts et *al.*, 2016; Breda et *al.*, 2019)**

La glycolyse est l'une des principales voies métaboliques dans tous les types de cellules pour fournir de l'énergie et des éléments constitutifs des voies de biosynthèse essentielles. Il implique la conversion du glucose en pyruvate dans le compartiment cytosolique, qui peut être transféré dans le cycle de l'acide tricarboxylique (TCA), ou fermenté en lactate (Riksen and Netea, 2021). Il existe une relation bilatérale étroite entre la régulation positive du métabolisme glycolytique et la reprogrammation épigénétique (Keating et *al.*, 2020). Dans une étude récemment établie les chercheurs ont observé que plusieurs gènes associés à la glycolyse ont augmenté dans les monocytes de lavages broncho-alvéolaires (BAL) de patients COVID-19. Ainsi, ils ont émis l'hypothèse que la disponibilité du glucose peut affecter la capacité de réplication virale. En résumé, leurs résultats montrent que, au moins dans les monocytes, l'augmentation de la glycolyse est un trait spécifiquement provoqué par la CoV-2 (Codo et *al.*, 2020).

L'incubation des cellules avec du 2-désoxy-D-glucose, a empêcher la stimulation des monocytes et l'immunité entraînée, c'est ainsi que le rôle du glucose comme substrat énergétique pour les monocytes a été démontré (Cheng et *al.*, 2014).

### 4. Covid 19

#### 4.1 Origine et historique :

À Wuhan, la capitale du Hubei, en Chine, des cas de maladie grave provoquant une pneumonie et la mort ont été signalés pour la première fois, vers la fin de décembre 2019. Peu de temps après, l'agent se propage à travers la Chine, dans le monde et le nombre de cas a considérablement augmenté (Ahn et *al.*, 2020). Le 7 janvier 2020, cet agent pathogène a été isolé et confirmé qu'il s'agissait d'un nouveau type de Coronavirus par le centre chinois de contrôle et de la prévention des maladies (CDC) (Ge et *al.*, 2020), et l'Organisation mondiale de la santé (OMS) l'a nommé 2019nCoV (Chen et *al.*, 2020b). Le 30 janvier, l'OMS déclara que le virus constitue une « urgence de santé publique de portée internationale » (ISPP) (Zarocostas, 2020). Ensuite le 21 février la commission internationale de taxonomie des virus (ICTV) a déclaré le 2019-nCov comme coronavirus du syndrome respiratoire aigüe sévère 2 (SARS-CoV-2) (Ge et *al.*, 2020), et en même temps l'OMS a nommé la maladie COVID-19 (Jamai Amir et *al.*, 2020).

#### 4.2 Épidémiologie

##### 4.2.1 Origine et évolution

Le nombre de cas de COVID-19 signalés à l'OMS a augmenté depuis le premier rapport de COVID-19 en décembre 2019 du bureau de pays de l'OMS en Chine (Ahn et *al.*, 2020). L'examen épidémiologique a révélé que la source d'infection, pourrait être reliée au marché des poissons de Chine du Sud à Wuhan (Li et *al.*, 2020b), tandis que la voie d'infection exacte du premier cas reste incertaine. Le nombre de cas confirmés en Chine a augmenté jusqu'à la mi-février 2020 (Ahn et *al.*, 2020).

En espace de deux mois, près 3 000 décès et de 100 000 cas ont été répertoriés dans plus de 50 pays et sur les cinq continents (Segondy, 2020).

4.2.1.1 Covid 19 dans le monde

Les cas identifiés dans les pays extérieurs de la Chine étaient particulièrement des voyageurs ayant été infecté en Chine, plusieurs pays tel que les Etats Unis, le Vietnam, l'Allemagne, le Singapour, l'Australie, le Japon ont signalé la détection des cas COVID-19 associé aux voyageurs venant de la Chine. Ensuite, le COVID-19 à commencer à se propager à l'échelle nationale de plusieurs pays comme l'Italie, le Japon, l'Iran, à partir du mi-février 2020 (Figure 1.5) (Ahn et al., 2020).

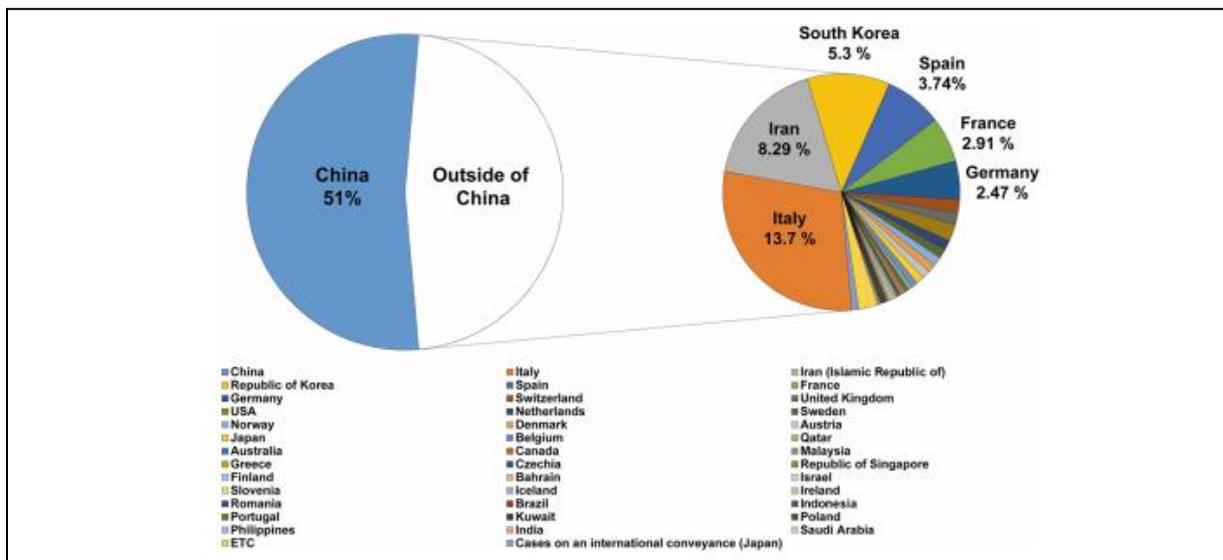


Figure 1.5. Distribution mondiale des cas confirmés de COVID-19, au 15 mars (Ahn et al., 2020). La distribution des cas confirmés de COVID-19 dans chaque pays est présentée dans le diagramme.

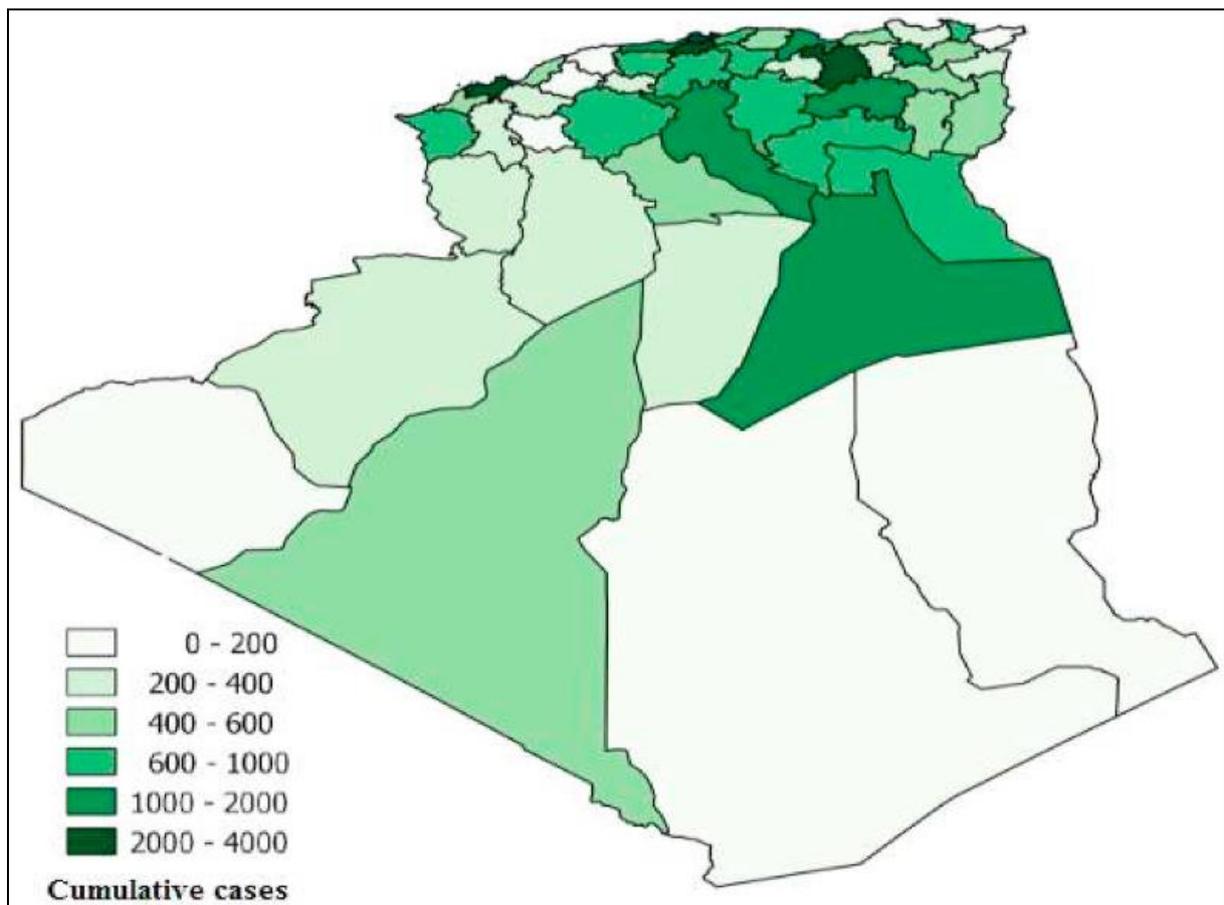
4.2.1.2 Covid 19 en Algérie

L'Algérie, située en Afrique du Nord, Depuis le premier cas, signalé le 25 février 2020 est le deuxième pays touché en Afrique, avec l'Afrique du Sud, l'Égypte, le Nigéria, le Maroc et Ghana. C'est aussi le troisième pays en termes de décès (Lounis, 2021). Après le premier mai, tous les 48 départements d'Algérie ont été touchés avec un nombre variant de 2 à 865 de cas positifs (Lounis, 2020).

Géographiquement, le plus grand nombre de cas est signalé dans le nord de l'Algérie, notamment dans le département de Blida (865 cas) et ses départements frontaliers comme Alger (563 cas), Ain Defla (237 cas), Tipaza (188 cas) et Medea (121) (Lounis, 2021).

Le département d'Oran dans le Nord-ouest est considéré comme le troisième département le plus touché, avec 286 cas positifs. En revanche, un autre foyer de la maladie a été observer

dans certains départements du nord-est comme Sétif (243 cas), Constantine (221 cas), Bordj Bou Arreridj (167 cas) et Bejaia (151 cas) (Lounis, 2020). Le département de Saïda (63), Relizane (189) et Chlef (194) dans la région de l'ouest et Illizi (124), Tamenrasset (194) et Tindouf (195) du sud sont les moins touchés (Figure 1.6) (Lounis, 2021; Radwan, 2020).



**Figure 1.6. Répartition géographique des cas de COVID-19 en Algérie (13 août 2020) (Radwan, 2020).**

### 4.2.2 Réservoir

Plusieurs études ont suggéré que la chauve-souris pourrait être le réservoir potentiel du Sars-CoV-2, car ils sont le réservoir naturel d'une grande variété de CoV, y compris les virus de type Sars-CoV et de type Mers-CoV (Lescure et *al.*, 2020).

Au niveau phylogénétique le SARS-CoV-2 à afficher une proche affinité avec des coronavirus de chauves-souris, Bat-SL-CoVZC45 et Bat-SL-CoVZXC21, avec 88% de similitudes, puis 79% avec le SARS-CoV, 50% pour MERS-CoV et le plus élevée était RatG3

avec une ressemblance de 96% de plus avec le Pangolin-CoV 91,02% (Guo et *al.*, 2020; Oberemok et *al.*, 2020). Mais jusqu'à présent rien ne prouve que l'origine du (2019 n CoV) provenait du marché de fruits de mer de Wuhan (Figure 1.7) (Lescure et *al.*, 2020).

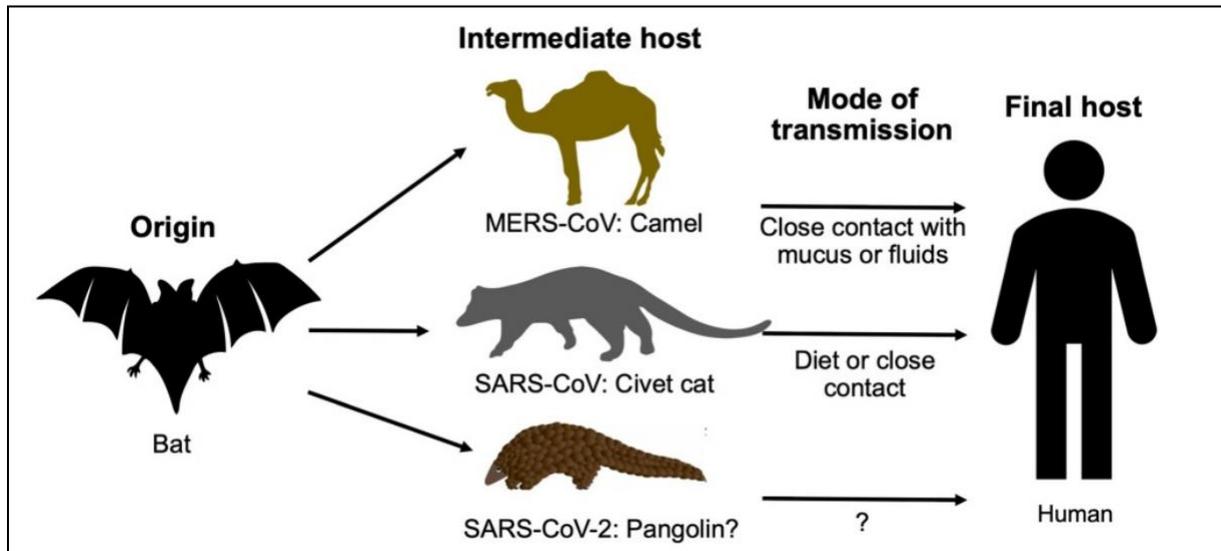


Figure 1.7. Origines et hôtes intermédiaires du SARS-CoV-2, du SARS-CoV et du MERS-CoV (Yi et *al.*, 2020).

### 4.2.3 Transmission

Au début, on pensait que la transmission du virus se faisait de l'animal à l'homme, car plus de la moitié des sujets atteints avaient fréquenté le marché de fruits de mer, cependant les jours suivants cette hypothèse a été écartée (Jamai Amir et *al.*, 2020). Actuellement, il est admis que la transmission interhumaine est la principale voie de transmission (Lescure et *al.*, 2020).

La pénétration du virus dans l'organisme peut se faire par contact avec les yeux, nez, bouche avec des mains contaminées, par inhalation de gouttelettes/sécrétions d'un malade, ou en cas de contact avec des surfaces infectées. Jusqu'à présent, la transmission verticale n'a pas été confirmée, cependant plusieurs cas de transmission postnatale ont été rapportés (Chen et *al.*, 2020a; Qiao, 2020). Par ailleurs, l'isolement d'ARN viral dans le sang et les selles a évoqué la possibilité d'une contamination sanguine ou oro-fécale qui n'a toutefois pas été démontrée à ce jour (Chen et *al.*, 2020c; Wang et *al.*, 2020b). Même la contamination par la muqueuse oculaire pourrait être possible (Wu et *al.*, 2020c). Une étude réalisée par Li et *al.*, à l'hôpital de Zhongnan de l'université de Wuhan a montré que 29 % du personnel médical et 12,3 % des agents de sécurité ont été infectés par Covid-19 en milieu hospitalier (Li et *al.*, 2020a).

### 4.2.4 La période d'incubation

C'est une notion importante pour déterminer la durée de l'isolement afin de contrôler la propagation de l'infection. Elle est définie comme l'intervalle entre la date d'un premier contact potentiel avec un patient suspect ou confirmé de Covid-19 et la date d'apparition des signes cliniques. La période d'incubation varie de deux à quatorze jours avec une médiane de cinq jours. Or, l'étude de Guan et *al.*, réalisée sur un large échantillon, a suggéré une moyenne de trois jours, avec une extrême arrivant à 24 jours (Backer et *al.*, 2020).

### 4.2.5 Âge et sexe

Par rapport à des études menées à Wuhan la majorité des patients atteints de Covid-19 sont des hommes adultes, leurs moyennes d'âge étaient de 55,5 ans (Chen et *al.*, 2020b; Huang et *al.*, 2020; Wang et *al.*, 2020a). Les sujets âgés ne représentaient que 14,6 % des malades (Ryu and Chun, 2020; Yin and Wunderink, 2018). L'atteinte des enfants est moins fréquente et moins grave, néanmoins des chercheurs ont décrit l'atteinte des nourrissons moins d'un mois (Guan et *al.*, 2020; Verity et *al.*, 2020)

### 4.2.6 Facteurs de risque

Dans une étude menée sur 51 de patients, les chercheurs ont montré que 50,5 % des patients souffraient de pathologies chroniques, à savoir les maladies cardio-vasculaires et cérébro-vasculaires (40,4 %) (Chen et *al.*, 2020b). Dans une série de 1 099 patients atteints de Covid-19, il a été détecté chez 23,2 % l'hypertension, suivie du diabète sucré (14,9 %) (Ryu and Chun, 2020).

## 4.3 Propriétés virales

### 4.3.1 Taxonomie

Du point de vue taxonomique, le SARS-CoV-2 (communément appelé "coronavirus") appartient au domaine des *Riboviria*, à l'ordre des *Nidovirales*, au sous-ordre des *Coronavirineae*, à la famille des *Coronaviridae*, à la sous-famille des *Orthocoronavirinae*, au genre *Betacoronavirus* (lignée B), le sous-genre *Sarbecovirus*, et l'espèce *syndrome aiguë sévère lié au syndrome respiratoire* (SARS-COV2) (Figure 1 .8) (Chan et *al.*, 2020).

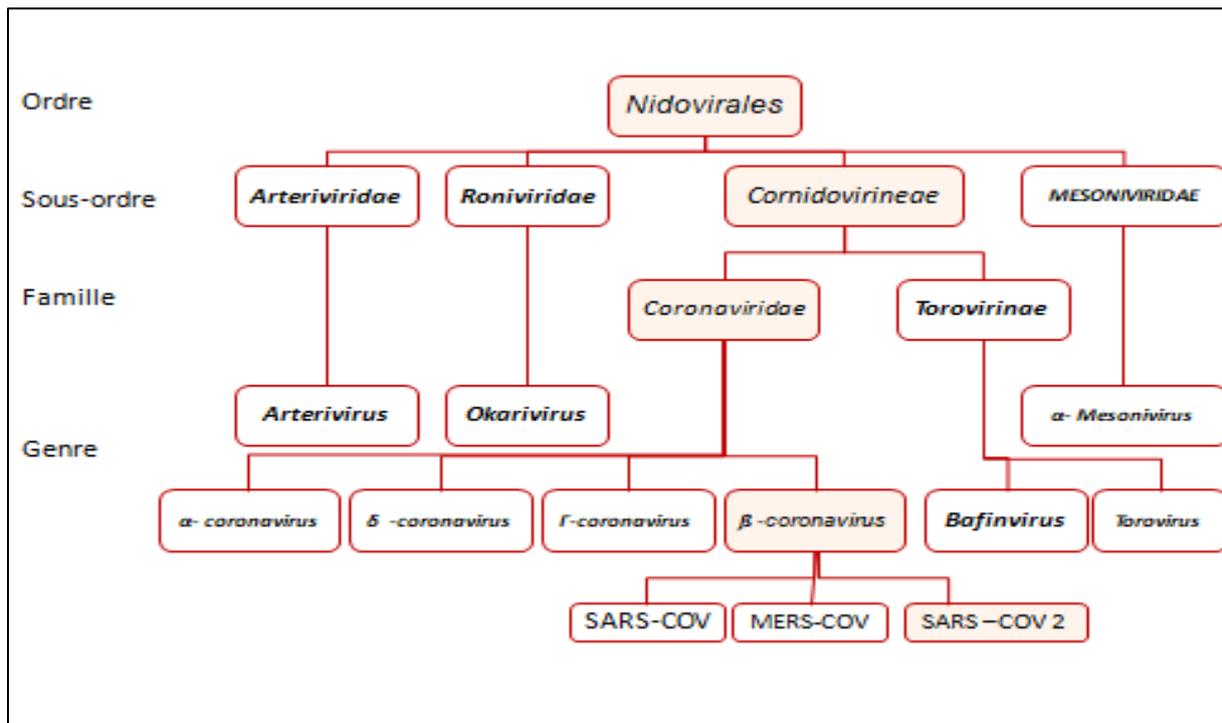
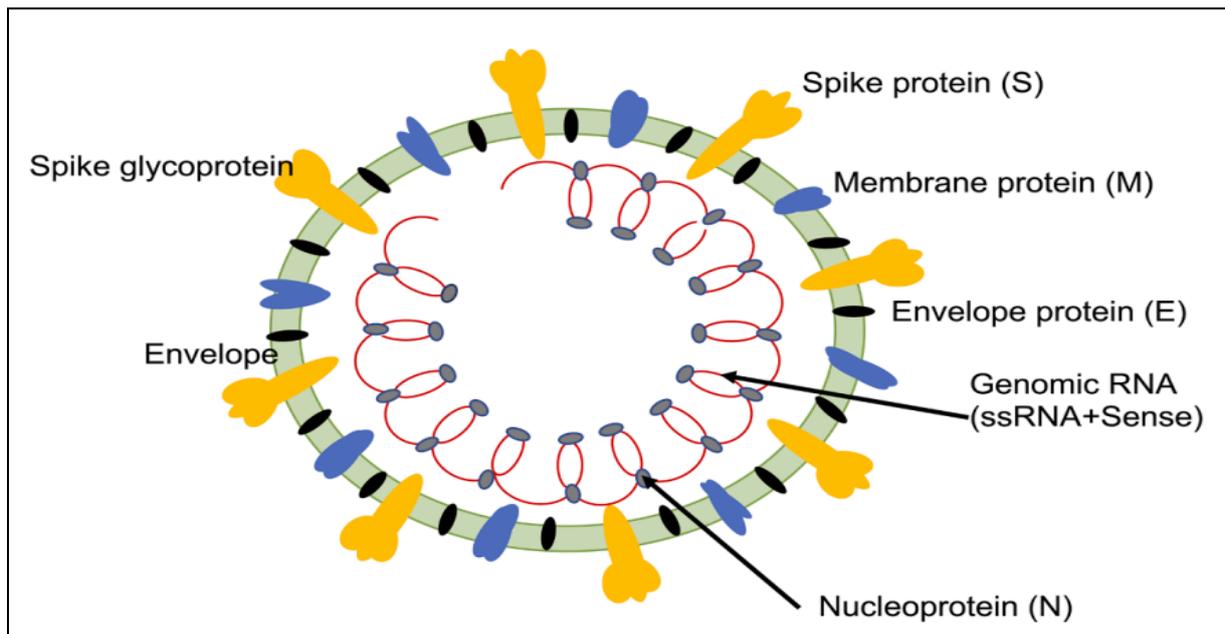


Figure 1.8. Classifications des Coronavirus.d'après (Rehman et *al.*, 2020).

#### 4.3.2 Structure

Le SARS-COV-2 est un virus sphérique, enveloppé de 60-220 nm, comprend de l'extérieur vers l'intérieur, la glycoprotéine Spike (S) qui donne l'aspect en couronne au virus en microscopie électronique, l'enveloppe, la membrane et la nucléocapside elle-même, qui est icosaédrique à symétrie cubique. Cette dernière contient une molécule de génome viral, de l'acide ribonucléique (ARN) monocaténaire, non segmenté et positif, avec 29 881 paires de bases (Jamai Amir et *al.*, 2020) .

La séquence d'ARN de SARS-COV-2 a une longueur d'environ 30 000 bases. Le virion a un diamètre d'environ 120 nanomètres (Figure 1.9) (Akram and Mannan, 2020).



**Figure 1.9. Représentation schématique de la structure du SARS-CoV-2 (Mishra and Tripathi, 2021).** Le virion du coronavirus est formé de protéines structurales, à savoir la pointe (S), l'enveloppe (E), la membrane (M), la nucléocapside (N). Le génome ARN simple brin positif (+ARNss) est encapsidé par N, pendant que M et E assurent son incorporation dans la particule virale durant le processus d'assemblage. Les trimères S débordent de l'enveloppe virale dérivée de l'hôte et assurent la spécificité des récepteurs d'entrée cellulaires.

### 4.3.3 Protéines

La majorité des protéines du SARS-CoV-2 ont été caractérisées en détail. Les protéines du SARS-CoV-2 consistent en deux grandes polyprotéines, l' ORF1a et l'ORF1ab, qui se clivent par protéolyse pour former 16 protéines non structurales, quatre protéines structurales, connues sous le nom de protéines S (spike), E (enveloppe), M (membrane) et N (nucléocapside), et huit protéines accessoires : ORF3a, ORF3b, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8a, ORF8b et ORF9b (Akram and Mannan, 2020; Yoshimoto, 2020).

#### 4.3.3.1 Protéines non structurales

Dans l'ARN génomique de SARS-CoV-2, il existe deux ORF, ORF1a et ORF1b codant pour diverses protéines non structurales (NSP), à l'extrémité 5'. Les polypeptides traduits de l'ORF 1a et b sont transformés en environ 1 à 15 NSP. Les NSPs assurent plusieurs rôles surtout dans la réplication (Tableau 1.3) (Raj, 2021).

**Tableau 4.1 Protéines non structurales (NSPs) du poly-protéines du SARS-CoV-2 (Mishra and Tripathi, 2021; Yoshimoto, 2020). Nsp : Protéine non structurale, ARN : acid ribonucléotique, PHB1 (Prohibitin 1).**

Nom	Acides aminés	Fonctions
Nsp1	180 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Induire le clivage de l'ARNm de l'hôte (protéine leader)</li> </ul>
Nsp2	638 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se lie au et PHB2 (Prohibitin 2)</li> </ul>
Nsp3	1945 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Libérer les NSP 1, 2, 3 (protéinase de type papaine)</li> </ul>
Nsp4	500 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réarrangement membranaire</li> </ul>
Nsp5	306 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Clivage de 11 sites de la polyprotéine NSP (3C like protéinase)</li> </ul>
Nsp6	290 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Responsable de la conception des autophagosome</li> </ul>
Nsp7	83 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dimérise avec Nsp8</li> </ul>
Nsp8	198 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stimules Nsp12</li> </ul>
Nsp9	113 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se lie aux hélicases</li> </ul>
Nsp10	139 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stimules Nsp16</li> </ul>
Nsp11	13 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Indéterminé</li> </ul>
Nsp12	932 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Copie la méthylation de l'ARN viral (ARN polymérase) (guanine)</li> </ul>
Nsp13	601 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Détache l'ARN duplex (hélicase)</li> </ul>
Nsp14	527 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ARN 5'-cap (exonucléase 3' à 5', guanine N7 méthyltransférase)</li> </ul>
Nsp15	346 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dégrader l'ARN en (endoRNase/endoribonucléase) pour échapper la défense de l'hôte</li> </ul>
Nsp16	298 acides aminés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Méthylation (adénine) de l'ARN à 5'-cap(2'-O-ribose méthyltransférase - cible potentielle du médicament antiviral)</li> </ul>

### 4.3.3.2 Proteines stucturelles

#### 4.3.3.2.1 Protéine S

La protéine spike est une glycoprotéine dont le poids moléculaire est d'environ 150 kDa (Akram and Mannan, 2020), qui sert d'intermédiaire pour l'attachement du virus à la cellule hôte. Cette protéine reconnaît la protéine humaine de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) à la surface de la cellule hôte (Lan et *al.*, 2020; Walls et *al.*, 2020). Par conséquent, la protéine S détermine dans une certaine mesure la gamme d'hôtes (Fung and Liu, 2019; Wu et *al.*, 2020a). Une étude récente a montré que les anticorps polyclonaux de souris anti-protéine spike du SARS-CoV-2 ont puissamment inhibé l'entrée du virus dans les cellules (Yoshimoto, 2020). Il est intéressant de noter qu'un site de clivage de la furine était situé dans la protéine S du SARS CoV-2 lors qu'il était absent de la protéine S du SARS CoV. Cette différence de site peut éventuellement expliquer la différence de pathogénicité de ces deux virus (Walls et *al.*, 2020). La séquence d'acides aminés de la glycoprotéine spike se compose de trois éléments : un grand domaine ecto, une ancre transmembranaire à passage unique et une courte queue intracellulaire C-terminale. Une unité de liaison aux récepteurs S1 et une unité de fusion membranaire S2 constituent le domaine ecto (Akram and Mannan, 2020).

#### 4.3.3.2.2 Protéine E

La protéine d'enveloppe est une petite protéine membranaire intégrale des coronavirus, qui peut s'oligomériser et créer un canal ionique. La protéine E assume de multiples rôles dans le cycle de réplication virale, de l'assemblage viral, la libération des virions, et la pathogenèse virale (Yoshimoto, 2020).

#### 4.3.3.2.3 Protéine N

La protéine de la nucléocapside (N) des coronavirus est une protéine structurelle qui se lie directement à l'ARN viral et assure sa stabilité (Grunewald et *al.*, 2018). La protéine N du SARS-COV-2 empêche l'activité du complexe cycline-cycline-kinase dépendante (cycline-CDK). Cette inactivation provoque l'hypophosphorylation de la protéine rétinoblastome et inhibe à son tour la progression de la réplication du génome dans le cycle cellulaire (Yoshimoto, 2020).

### 4.3.3.2.4 Protéine M

La protéine membranaire (M) du SARS-COV- 2 est la protéine la plus structurée et joue un rôle dans la détermination de la forme de l'enveloppe du virus. La protéine M est intégrale, assure un rôle important dans l'assemblage viral. De plus, il a été prouvé que la protéine M du SARS-COV-2 provoque l'apoptose. Elle interagit avec la protéine de la nucléocapside (N) pour encapsider le génome ARN (Yoshimoto, 2020).

### 4.3.3.3 Protéines accessoires

Les génomes contiennent également un nombre variable de cadres de lecture ouverts (ORF) codant pour des protéines accessoires qui ne sont pas essentielles à la réplication du virus, mais semblent jouer un rôle dans la pathogenèse (Tableau 1.4) (Michel et *al.*, 2020).

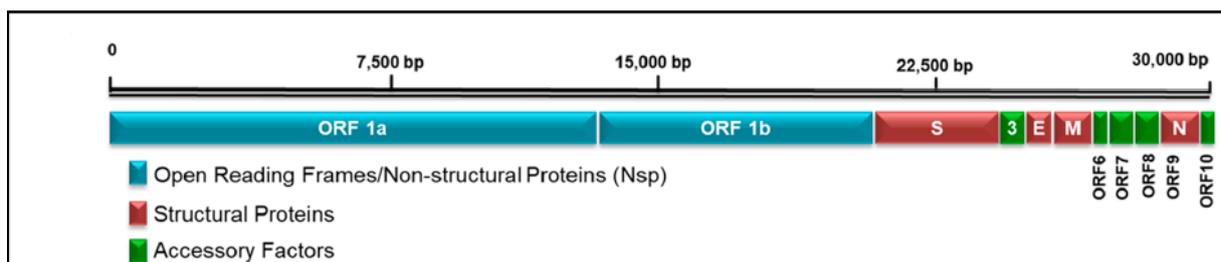
**Tableau 4.2 Protéines accessoires et leurs rôles (Mishra and Tripathi, 2021).**

Proteines	Fonctions
ORF3a	<ul style="list-style-type: none"><li>• implication dans le trafic de la protéine S et de l'apoptose</li></ul>
ORF3b	<ul style="list-style-type: none"><li>• inhibition des activités des interférons</li></ul>
ORF6	<ul style="list-style-type: none"><li>• antagoniste de l'interféron I qui se lie aux caryophérines et diminue la réponse interféron/antivirale</li></ul>
ORF7a	<ul style="list-style-type: none"><li>• implication dans l'apoptose induite par le virus ; inhibition</li></ul>
CD317	<ul style="list-style-type: none"><li>• qui empêche la libération des CoVs</li></ul>
ORF7b	<ul style="list-style-type: none"><li>• fonction inconnue</li></ul>
ORF8	<ul style="list-style-type: none"><li>• fonction inconnue</li></ul>
ORF9b	<ul style="list-style-type: none"><li>• implication dans la dégradation des signalosomes ;</li><li>• limite les réponses des cellules hôtes aux interférons</li></ul>

### 4.3.4 Génome

Le génome du SARS-CoV-2 consiste en un ARN simple brin positif de près de 29 900 nucléotides et d'un contenu G+C de 38 %, codant pour 9 860 acides aminés. La caractérisation du génome a révélé la présence de deux régions flanquantes non traduites, la 5'UTR qui contient 265 nucléotides et la 3'UTR avec une longueur de 358 nucléotides (Chan *et al.*, 2020). L'ARN génomique possède une coiffe en 5' et une queue en 3' en poly-A, ainsi que de nombreux cadres de lecture ouverts (ORF). La réplicase du virus est codée par deux grands ORF, l'ORF1a et l'ORF1b. Cet ARN code pour des protéines structurales et non structurales ayant des fonctions différentes. Les protéines structurales sont codées par l'extrémité 3'-terminus et comprennent la glycoprotéine d'enveloppe (S), (E), (M) et (N) (Fung and Liu, 2019; Zhou *et al.*, 2020). L'extrémité 5'-terminale du génome consiste en des gènes accessoires qui sont spécifiques de l'espèce et codent pour les polyprotéines pp1a et pp1b. La polyprotéine pp1a se divise ensuite en protéines non structurales qui participent à la transcription et à la réplication du génome (Anastasopoulou and Mouzaki, 2020; Chan *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2020d).

Dans une étude les chercheurs ont démontré une similitude génomique et phylogénétique entre le Sars-Cov-2 et le Sars-CoV (Wu *et al.*, 2020b). Les protéines structurales M, N et E du SARS-CoV-2 présentaient une similarité de plus de 90 % avec les coronavirus connus. L'analyse du génome complet a montré que le gène S du SARS-CoV-2 est plus long que celui des autres SARSs-CoVs. Il existe trois courtes insertions dans le domaine N-terminal et des altérations dans quatre des cinq résidus dans le motif de liaison au récepteur (Figure 1.10) (Chan *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020).



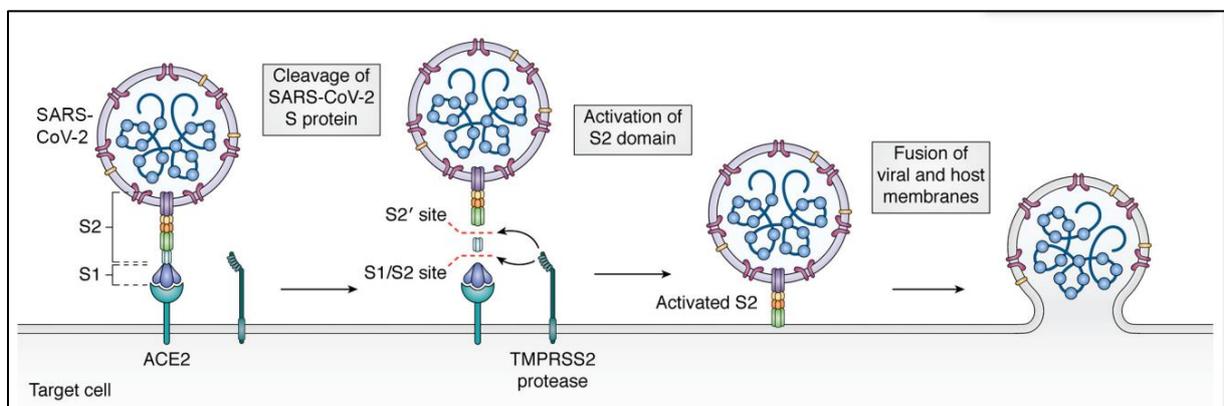
**Figure 1.10. Illustration du génome complet du SARS-CoV-2 (Uddin *et al.*, 2020).** L'emplacement des cadres de lecture ouverts 1a et 1b codant pour les protéines non structurales, Nsp (bleu), les protéines structurales (rouge) et les facteurs accessoires (vert). Les chiffres en haut font référence à l'ARN génomique

### 4.3.5 La réplication et pathogénèse

Le cycle viral de Sars-CoV-2 dans la cellule passe par l'attachement, la pénétration et la décapsidation puis les synthèses des macromolécules tel que les acides nucléiques et protéines. Suivi par l'assemblage des nucléocapsides puis l'enveloppement et la libération des virions infectieux en même temps qu'une lyse de la cellule infectée (Jamai Amir et *al.*, 2020).

### 4.3.5.1 Entrée du virus

Le virus s'attache spécifiquement à l'ACE2 (Angiotensin-converting enzyme), récepteur cellulaire de l'hôte, via la protéine S virale qui a une haute affinité à ce récepteur (Jamai Amir et *al.*, 2020; Xia et *al.*, 2020). En effet, la protéine S est constituée de deux sous-unités fonctionnelles : la sous-unité S1 permet la liaison du virus au récepteur de la cellule hôte et la sous-unité S2 assure la fusion de l'enveloppe virale et la membrane cellulaire (Millet and Whittaker, 2015). Le clivage de la protéine S par la protéase de surface de cellule hôte TMPRSS2 (la sérine-protéase de surface cellulaire) (Hoffmann et *al.*, 2020), active la fusion au niveau de deux sites en tandem, heptad repeat 1 (HR1) (Xia et *al.*, 2020) et HR2 (Yu et *al.*, 2020). Ainsi, l'ARN viral est libéré dans le cytoplasme (Figure 1.11) (Jamai Amir et *al.*, 2020) .



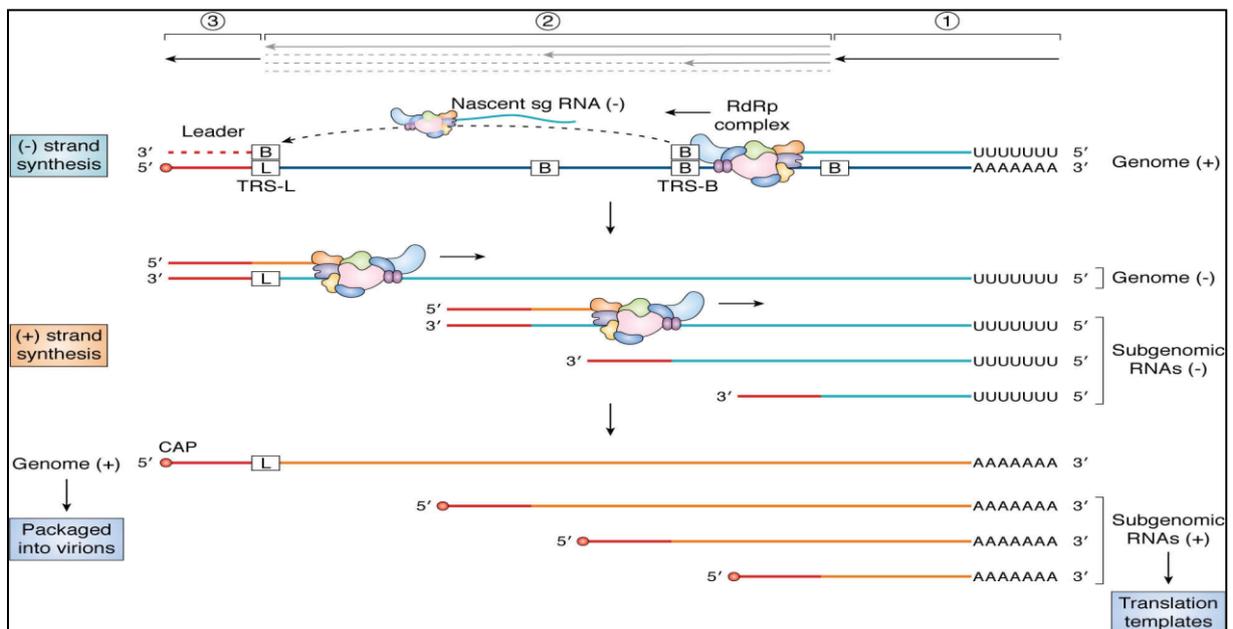
**Figure 1.11. Représentation schématique du mécanisme d'entrée du virus SARS-CoV-2 (Hartenian et *al.*, 2020).**

### 4.3.5.2 Replication

Une fois l'ARN dans le cytoplasme, le complexe réplication-transcription (RTC) assure sa réplication, et la synthèse des protéines (Jamai Amir et *al.*, 2020). De nombreuses Nsps s'assemblent dans le complexe réplécase-transcriptase (RTC) pour créer un environnement adapté à la synthèse de l'ARN. Les NSPs sont finalement responsables de la réplication de

l'ARN et de la transcription des ARN subgénomiques (Fehr and Perlman, 2015). Comme pour les autres virus à ARN à brin positif, la réplication des coronavirus nécessite la synthèse de l'ARN complémentaire à brin négatif complet, qui servira de matrice pour la génération de génomes de descendance à brin positif (Hartenian et *al.*, 2020).

Les brins d'ARN+ et ARN- antisens sont destinés à l'emballage en nouveau virions progéniteurs, sauf que les brins d'ARN- antisens subissent une transcription discontinue qui s'explique par une multi transcription d'un brin ARN, par une ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp), afin d'avoir plusieurs ARNm appelée ARNm subgénomique de différentes tailles et qui codent pour les protéines virales (Fehr and Perlman, 2015). Les protéines virales sont sécrétées via la voie sécrétoire au niveau du Réticulum endoplasmique rugueux RER (Figure 1.12) (Chambers et *al.*, 2020).

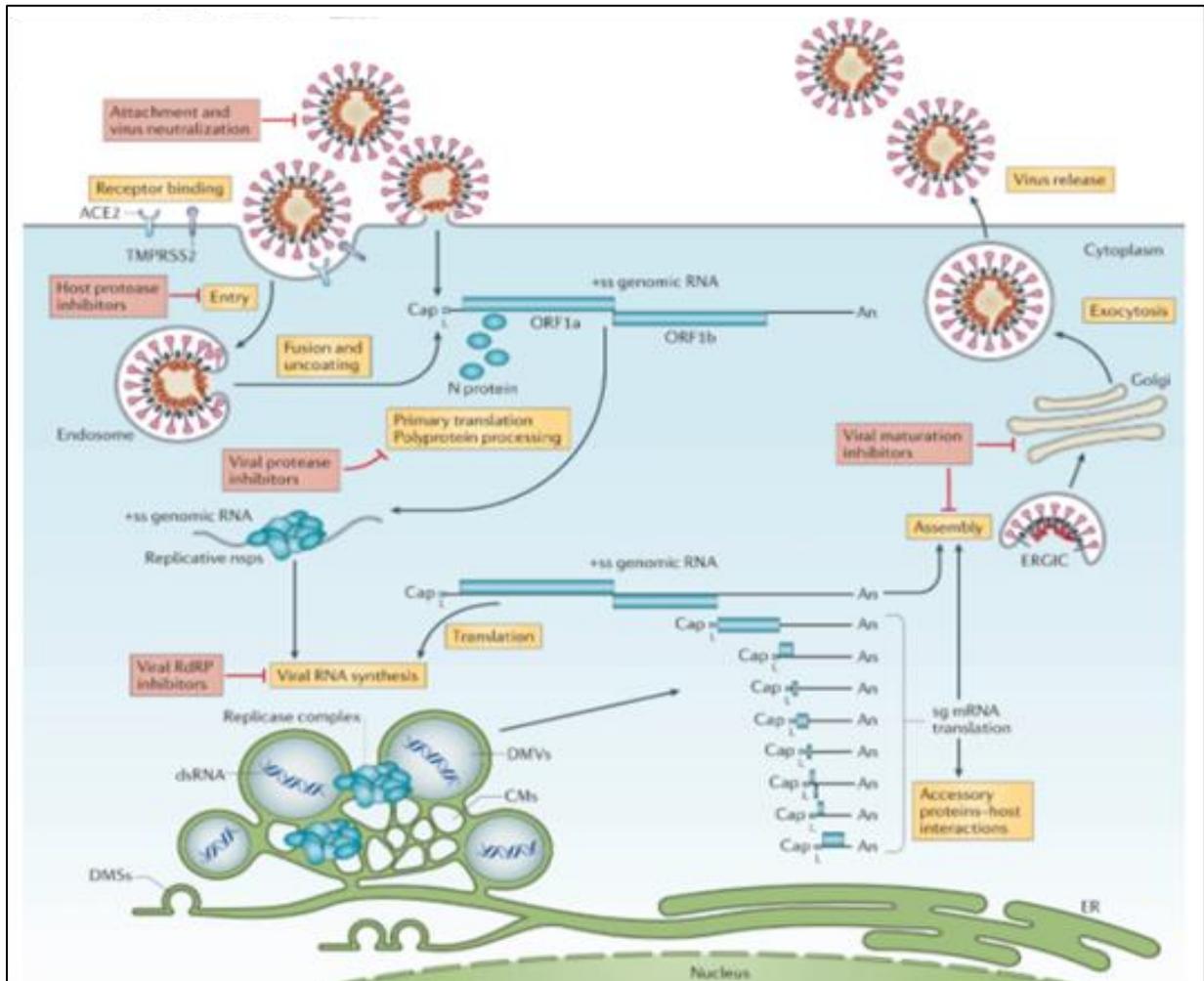


**Figure 1.12. Transcription discontinue (Hartenian et *al.*, 2020).** Le complexe RdRp entame la transcription à l'extrémité 3' du génome positif-sens (1). Après avoir copié les séquences TRS-B présentes à des sites spécifiques le long du corps du génome (2), le complexe RdRp peut " sauter " à la séquence TRS-L (3) en fonction de la complémentarité entre la séquence TRS-B sur l'ARN sous génomique (sg) naissant et la séquence TRS-L sur le génome. La transcription est reprise sur la nouvelle matrice, et la séquence leader (indiquée en rouge) est copiée pour compléter l'ARN du génome à brin négatif. Le complexe RdRp ne change pas toujours de matrice au niveau des séquences TRS-B, ce qui conduit à la synthèse d'ARN à brin négatif de la longueur du génome. Les ARN à brin négatif servent de matrices pour la synthèse d'ARN à brin positif de longueur génomique ou d'ARN sous génomique.

### 4.3.5.3 Assemblage et libération

Les protéines de structure s'auto-assemblent en capsomères puis en nucléocapside par intégration du génome répliqué. Après y'aura formation de bourgeons, les vésicules

contenant les virions fusionnent avec la membrane plasmique pour être libérées (Jamai Amir et al., 2020). Ce cycle lytique existe dans les cellules respiratoires infectées par le virus (Xia et al., 2020). le virion mature nouvellement libéré peut infecter une nouvelle cible, et cela continue consécutivement (Figure 1.13) (Hartenian et al., 2020).



**Figure 1.13. Etapes du cycle viral du Sars-Cov-2 (V'kovski et al., 2021).** Les particules de coronavirus se lient aux facteurs d'attachement cellulaires et les interactions spécifiques S avec les récepteurs cellulaires (tels que l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2)), ainsi que les facteurs de l'hôte (tels que la sérine-protéase de surface cellulaire TMPRSS2), favorisent l'absorption et la fusion virales au niveau de la membrane cellulaire ou endosomale. Après l'entrée, la libération et le décapage de l'ARN génomique entrant le rendent apte à la traduction immédiate de deux grands cadres de lecture ouverts, ORF1a et ORF1b. Les polyprotéines pp1a et pp1ab qui en résultent sont ensuite transformées de manière co-traductionnelle et post-traductionnelle en protéines non structurales individuelles (nsps) qui forment le complexe de réplication et de transcription virale. Parallèlement à l'expression des nsps, la biogenèse des organelles de réplication virale, composées de vésicules à double membrane (DMV) périnucléaires caractéristiques, de membranes convolutées (CM) et de petites sphères ouvertes à double membrane (DMS), permet de créer un microenvironnement protecteur pour la réplication de l'ARN génomique viral et la transcription des ARNm sous-génomiques (ARNm sg) comprenant l'ensemble caractéristique des ARNm des coronavirus. Les protéines structurales traduites sont transloquées dans les membranes du réticulum endoplasmique (RE) et passent par le compartiment intermédiaire RE-Golgi (ERGIC), où l'interaction avec l'ARN génomique N-encapsidé nouvellement produit entraîne le bourgeonnement dans la lumière des compartiments vésiculaires sécrétoires. Enfin, les virions sont sécrétés de la cellule infectée par exocytose. Les étapes clés inhibées par des composés en cours de validation et qui représentent des cibles antivirales attractives sont surlignées en rouge. An, séquence

polyA 3' ; cap, structure de la coiffe 5' ; dsRNA, ARN double brin ; L, séquence leader ; RdRP, ARN polymérase ARN-dépendante.

### 5. SARS-CoV-2 et monocyte

Les phagocytes mononucléaires sont une famille largement répandue de cellules contribuant à l'immunité innée et adaptative. Les monocytes circulants participent à toutes les étapes du SARS COVID-19. Ils contribuent aux comorbidités prédisposant à l'infection clinique, à la résistance et à la dissémination du virus. Ils participent également aux facteurs de l'hôte qui déterminent la gravité, la guérison et les séquelles de la maladie (Martinez et *al.*, 2020). L'infection au SARS-CoV-2 présente un risque d'évolution clinique grave en raison d'un syndrome inflammatoire dérégulé (Moore and June, 2020). L'infection est caractérisée par une tempête de cytokines, un syndrome de détresse respiratoire aiguë et, dans certains cas, une inflammation systémique–pathologie associée. Les monocytes sont les principaux responsables de la tempête de cytokines et des pathologies associées au COVID-19 (Pence, 2020).

#### 5.1 Enzyme de conversion de l'angiotensine 2

L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) est la principale cible pour les coronavirus pathogènes humains (SARS-CoV-1, MERS et SARS-CoV-2) , car il joue un rôle clé dans l'entrée du virus dans la cellule ainsi que dans la propagation et la pathogenèse virales, en interférant dans le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) (Lu et *al.*, 2020).

Les sous-ensembles de monocytes humains présentent une expression différente de ACE1 et ACE2, qui peuvent être directement impliqués dans la régulation du tonus vasculaire et de la pression artérielle ,via les mécanismes du SRAA (Rutkowska-Zapała et *al.*, 2015). Les monocytes activés par le SARS-CoV-2 pourraient également être impliqués de manière critique dans l'effet pathogène sur l'homéostasie vasculaire, par la perturbation de la fonction de l'ACE2 (Lu et *al.*, 2020).

Par conséquent, l'activation des monocytes par le SARS-CoV-2 et la perturbation du SRAA par l'activation des monocytes par l'ACE2 peuvent déclencher des syndromes coronariens aigus chez les patients prédisposés (Bangalore et *al.*, 2020).

### 5.2 Tempête de cytokines

La tempête de cytokines ou syndrome de libération de cytokines (SRC) est une forme de réponse inflammatoire systémique généralement déclenchée par divers facteurs tels que des infections et des médicaments (Moore and June, 2020). Le SRC se produit lorsqu'un grand nombre de leucocytes sont activés et libèrent des cytokines pro-inflammatoires, ce qui recrute et active d'autres leucocytes dans une boucle de rétroaction positive d'hyperinflammation (Gomez-Rial et *al.*, 2020).

Récemment, des études ont identifié les monocytes humains comme la principale source des caractéristiques du SRC, tels que l'IL-1, l'IL-6 et l'oxyde nitrique. La déplétion des monocytes ou la déplétion thérapeutique de l'IL-6 et de l'IL-1 a permis de prévenir le SRC dans (Sumaili et *al.*, 2015).

L'IL-6 est un facteur essentiel dans le contrôle moléculaire de l'activation et de la différenciation des monocytes (Gomez-Rial et *al.*, 2020). Les deux cytokines ont augmenté pendant la tempête de cytokines chez les patients atteints du SARS-CoV-2 nécessitant une unité de soins intensifs (Huang et *al.*, 2020).

### 5.3 Coagulation

Les monocytes peuvent agir comme des facteurs pro-coagulants et interagir avec les mécanismes de coagulation sanguine, entraînant la formation de thrombus et l'accumulation de fibrine extravasculaire (Gomez-Rial et *al.*, 2020). Le COVID-19 est lié à un syndrome thrombo-inflammatoire obstructif microvasculaire dans les poumons et d'autres organes vitaux, entraînant une défaillance de plusieurs organes et la mort (Klok et *al.*, 2020).

## 6. Problématique et objectifs

### 6.1 Problématique

Les monocytes, produit dans la moelle osseuse font partie des leucocytes, qui protègent l'organisme en assurant plusieurs rôles, notamment, la présentation d'antigène, la phagocytose, la réparation tissulaire et ils assurent également un rôle dans l'immunité antimicrobiennes et antiviral. Ces dernières années les monocytes ont montré une certaine mémoire entraînée, qui permet une réponse plus efficace et rapide lors d'une infection ultérieure. Cette mémoire est accompagnée par des adaptations épigénétiques et métaboliques. De plus, les métabolites peuvent jouer le rôle de substrats, cofacteurs ou inhibiteurs des enzymes modifiant les gènes. Parmi ces métabolites on trouve le glucose qui est considéré comme la principale source d'énergie pour la plupart des cellules. Par ailleurs, plusieurs études ont montré la présence des monocytes dans toutes les étapes de l'infection par SARS-COV2, un virus à ARN qui a provoqué une pandémie mondiale. Où la tempête des cytokines est l'une de ses caractéristiques dont le responsable est les monocytes.

### **6.2 Objectif**

Evaluer l'iGLU monocyttaire au cours de l'infection à SARS-CoV-2 dans le contexte de l'immunity entraînée.

### **6.3 But**

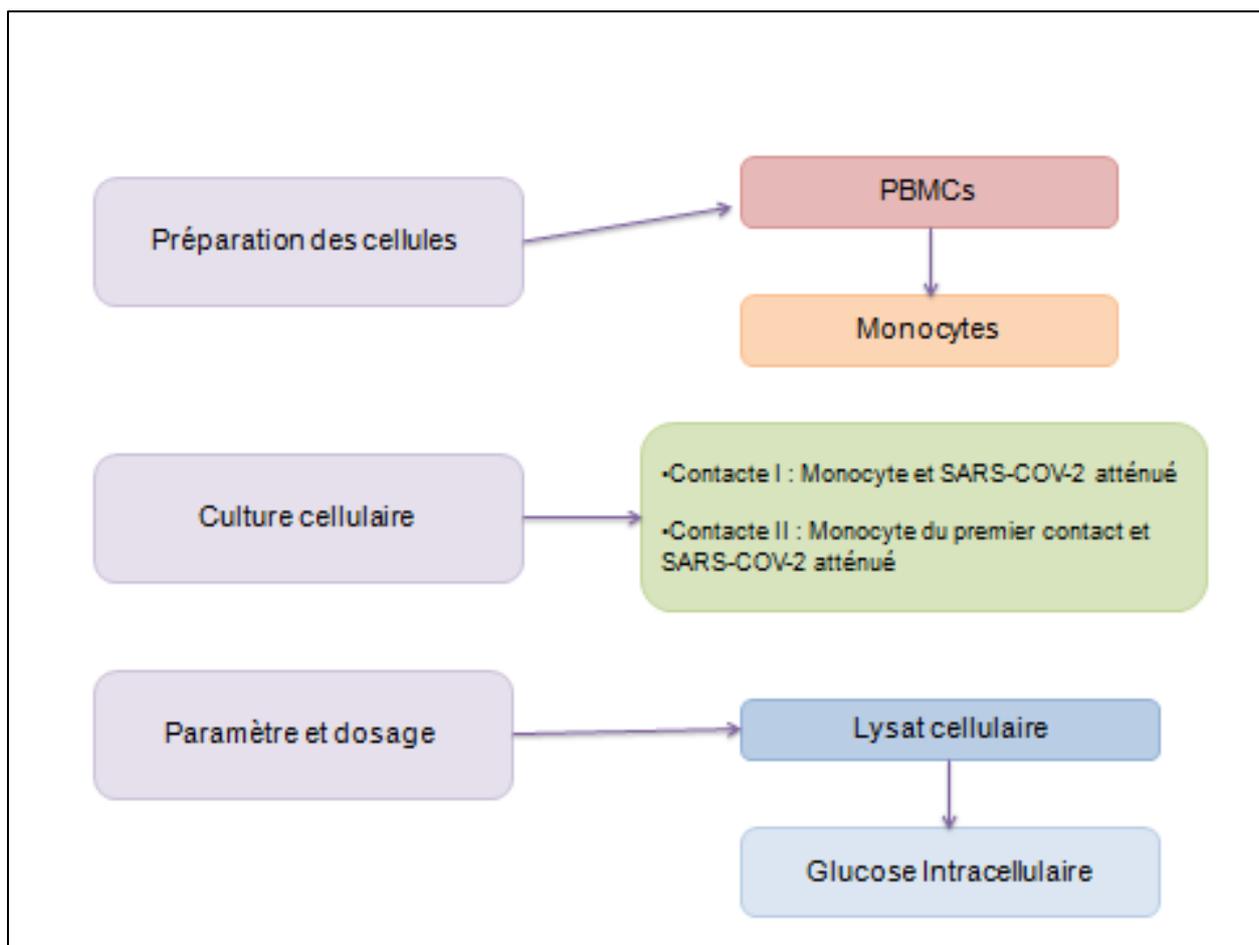
Montrer que les monocytes infectés par SARS-COV-2 pourraient développer une immunité entraînée.

### Chapitre 2 : Matériels et méthodes

#### 1. Déclaration éthique

Les donneurs sains volontaires ont fournis leurs consentements éclairés écrit et cette étude a été approuvée par le Comité d'éthique local de l'Université de Tlemcen.

#### 2. Conception de l'étude



#### 3. Isolation des MO et culture cellulaire

Les PBMC ont été isolées à partir du sang veineux frais prélevé dans des tubes contenant de l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) (BD, Belliver Industrial Estate, Royaume-Uni). Premièrement, le sang total a été dilué avec un volume égal de solution saline isotonique tamponnée au phosphate (PBS). Les PBMC ont ensuite été isolées en utilisant un gradient de densité, après avoir soigneusement déposé du sang total dilué

## Chapitre 2 : Matériels et méthodes

---

sur un volume égal d'Histopaque-1077 (Sigma Aldrich Co., St. Louis, MO), et centrifugées à 400 g pendant 30 min à température ambiante. L'interface opaque contenant les cellules mononucléées a été récupérée et lavée 3 fois avec un volume consécutif du PBS (10, 5, et 5 mL) par centrifugation à 250 g pendant 10 min.

Les cellules ont été mises en suspension dans 1 ml (0,5 ml/chaque culot cellulaire isolé) de Milieu de culture RPMI 1640 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), additionné de 2 mM de L-glutamine, 1 mM de pyruvate de sodium, 50 mg/mL de gentamicine et 10 % de sérum fœtal de veau (FCS).

La viabilité cellulaire a été évaluée par le test d'exclusion au bleu trypan (TBET) (Richardson et Fedoroff 1997).

Les Monocyte (MO) ont été isolées des PBMC par la méthode d'adhérence différentielle au plastique.  $10^6$  cellules/mL de suspensions de PBMC sontensemencées dans des plaques de culture cellulaire de 24 puits, puis cultivées en milieu RPMI-1640 complet, contenant 10 % de sérum bovin fœtal (SVF) et 40 µg/mL de gentamycine, dans 5% de CO<sub>2</sub> pendant 2 h à 37°C (Richardson and Fedoroff, 1997; Wahl et al., 2005). Les cellules non adhérentes ont été éliminées par lavage avec PBS. La quantification de la viabilité cellulaire a été évaluée par microscopie optique (Figure 2.1) (Zeiss, Allemagne).

Les MOs adhérentes ont été infectés une première fois par le SARS-CoV-2 atténué. Un deuxième contact avec le virus atténué a été effectué après 24h. Le taux de l'iGLU monocyttaire a été évalué dans les lysats monocytaires après chaque contact avec le virus atténué.

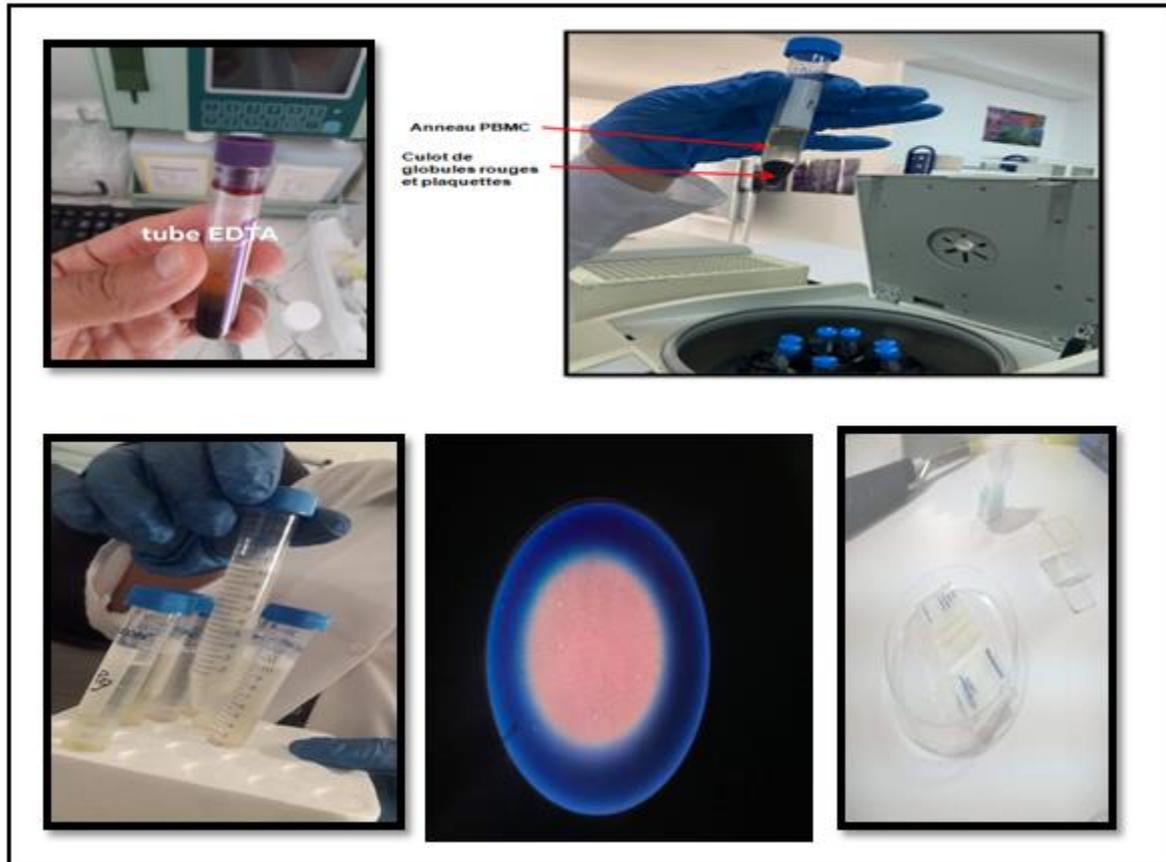


Figure 2.1 Préparation des cellules

#### 4. Lyse des MOs

Les MO ont été lysées avec 0,1 % de Triton X-100 pendant 30 minutes pour déterminer les niveaux de iGlu. La réaction a été arrêtée avec un mélange de Tris-HCl (25 mM, pH = 7,4) et de MnCl<sub>2</sub> (5 mM).

#### 5. Dosage des niveaux d'iGlu

##### 5.1 Principe de la méthode

Les concentrations d'iGlu ont été évaluées par spectrophotométrie sur les surnageants des lysats MOs à l'aide d'un kit de dosage commercial (CHRONOLAB Systems, Espagne), conformément aux instructions du fabricant. Ce processus est basé sur l'oxydation du glucose en acide gluconique par l'enzyme glucose oxydase (GOD), et le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produit a été détecté à 505 nm (McPhie, 1975) avec un accepteur d'oxygène chromogène, le phénol, 4-aminophénazone (4-AP) en présence de peroxydase (POD):

## Chapitre 2 : Matériels et méthodes

---



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de glucose présent dans l'échantillon testé. Les résultats ont été exprimés en nanomoles par mg de protéine.







### Conclusion

Les monocytes jouent un rôle important dans l'immunité innée, ils arrivent à lier cette dernière avec l'immunité adaptative en présentant l'antigène, phagocytose, réparation des tissus et pleins d'autres fonctions. Ces dernières années il s'est avéré que comme l'immunité adaptative, l'immunité innée a montré une certaine mémoire entraînée, due à des modifications épigénétiques et métaboliques lors d'une infection. Le glucose est l'un des métabolites clé vu son importance énergétique.

Dans ce travail on a évalué le taux du glucose intracellulaire dans des monocytes infectés particulièrement par le SARS-COV-2 atténué, dans l'intérêt de prouver l'existence d'une immunité innée entraînée.

Pour comprendre exactement ce phénomène, on doit tout d'abord, élucider les mécanismes moléculaires qui interviennent dans l'immunité entraînée, au niveau des types de cellules impliquées, et les processus immunologiques, métaboliques et épigénétiques. Il sera également important de déterminer la durée de la mémoire immunitaire innée et son influence sur les précurseurs des cellules immunitaires innées dans les populations de macrophages de la moelle osseuse et des tissus.

Ensuite, les recherches futures devraient examiner l'impact de l'immunité entraînée sur les Maladies : d'une part, son rôle dans les maladies où la défense de l'hôte est compromise, et d'autre part, son rôle dans les maladies auto-inflammatoires et auto-immunes dans lesquelles des programmes inadaptés peuvent être en place. Les avancées rapides des technologies de pointe telles que la transcriptomique et l'épigénomique de la cellule unique, en particulier la méthylation de l'ADN, nous permettent d'identifier les nouvelles sous-populations potentielles de cellules susceptibles de présenter des caractéristiques de mémoire immunitaire innée. Cela renforcera notre compréhension des processus immunologiques et ouvrira la voie à de nouvelles thérapies ciblant des sous-populations cellulaires spécifiques.

Enfin, le concept de mémoire immunitaire innée présente un important potentiel d'aide à la conception de nouvelles approches thérapeutiques, tel que la formulation de vaccins de nouvelle génération de combinaison entre immunité innée et adaptative.



## Chapitre 5 : Bibliographie

---

Ahn, D.-G., Shin, H.-J., Kim, M.-H., Lee, S., Kim, H.-S., Myoung, J., Kim, B.-T., and Kim, S.-J. (2020). Current Status of Epidemiology, Diagnosis, Therapeutics, and Vaccines for Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Journal of Microbiology and Biotechnology* 30, 313–324.

Akram, A., and Mannan, N. (2020). Molecular Structure, Pathogenesis and Virology of SARS-CoV-2: A Review. *Bangladesh J. Infect. Dis.* S36–S40.

Al-Samkari, H., and Berliner, N. (2018). Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 13, 27–49.

Anastasopoulou, S., and Mouzaki, A. (2020). The biology of SARS-CoV-2 and the ensuing COVID-19. *Achaiki Iatriki* 39, 29–35.

Arts, R.J.W., Novakovic, B., ter Horst, R., Carvalho, A., Bekkering, S., Lachmandas, E., Rodrigues, F., Silvestre, R., Cheng, S.-C., Wang, S.-Y., et al. (2016). Glutaminolysis and Fumarate Accumulation Integrate Immunometabolic and Epigenetic Programs in Trained Immunity. *Cell Metabolism* 24, 807–819.

Backer, J.A., Klinkenberg, D., and Wallinga, J. (2020). Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20–28 January 2020. *Eurosurveillance* 25.

Bangalore, S., Sharma, A., Slotwiner, A., Yatskar, L., Harari, R., Shah, B., Ibrahim, H., Friedman, G.H., Thompson, C., Alviar, C.L., et al. (2020). ST-Segment Elevation in Patients with Covid-19 — A Case Series. *N Engl J Med* 382, 2478–2480.

Belhassena, I., Nouari, W., Messaoud, A., Nouar, M., Brahimi, M., Lamara, S.-A.C., and Aribi, M. (2020). Aspirin enhances regulatory functional activities of monocytes and downregulates CD16 and CD40 expression in myocardial infarction autoinflammatory disease. *International Immunopharmacology* 83, 106349.

Boyette, L.B., Macedo, C., Hadi, K., Elinoff, B.D., Walters, J.T., Ramaswami, B., Chalasani, G., Taboas, J.M., Lakkis, F.G., and Metes, D.M. (2017). Phenotype, function, and differentiation potential of human monocyte subsets. *PLoS ONE* 12, e0176460.

Breda, C.N. de S., Davanzo, G.G., Basso, P.J., Saraiva Câmara, N.O., and Moraes-Vieira, P.M.M. (2019). Mitochondria as central hub of the immune system. *Redox Biology* 26, 101255.

Canè, S., Ugel, S., Trovato, R., Marigo, I., De Sanctis, F., Sartoris, S., and Bronte, V. (2019). The Endless Saga of Monocyte Diversity. *Front. Immunol.* 10, 1786.

Chambers, J.P., Yu, J., Valdes, J.J., and Arulanandam, B.P. (2020). SARS-CoV-2, Early Entry Events. *Journal of Pathogens* 2020, 1–11.

Chan, J.F.-W., Kok, K.-H., Zhu, Z., Chu, H., To, K.K.-W., Yuan, S., and Yuen, K.-Y. (2020). Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerging Microbes & Infections* 9, 221–236.

Chen, H., Guo, J., Wang, C., Luo, F., Yu, X., Zhang, W., Li, J., Zhao, D., Xu, D., Gong, Q., et al. (2020a). Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. *The Lancet* 395, 809–815.

## Chapitre 5 : Bibliographie

---

- Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., Qiu, Y., Wang, J., Liu, Y., Wei, Y., et al. (2020b). Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet* *395*, 507–513.
- Chen, W., Lan, Y., Yuan, X., Deng, X., Li, Y., Cai, X., Li, L., He, R., Tan, Y., Deng, X., et al. (2020c). Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity. *Emerging Microbes & Infections* *9*, 469–473.
- Chen, Y., Guo, Y., Pan, Y., and Zhao, Z.J. (2020d). Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV. *Biochemical and Biophysical Research Communications* *525*, 135–140.
- Cheng, S.-C., Quintin, J., Cramer, R.A., Shepardson, K.M., Saeed, S., Kumar, V., Giamarellos-Bourboulis, E.J., Martens, J.H.A., Rao, N.A., Aghajani-refah, A., et al. (2014). mTOR- and HIF-1 - mediated aerobic glycolysis as metabolic basis for trained immunity. *Science* *345*, 1250684–1250684.
- Codo, A.C., Davanzo, G.G., Monteiro, L. de B., de Souza, G.F., Muraro, S.P., Virgilio-da-Silva, J.V., Prodonoff, J.S., Carregari, V.C., de Biagi Junior, C.A.O., Crunfli, F., et al. (2020). Elevated Glucose Levels Favor SARS-CoV-2 Infection and Monocyte Response through a HIF-1 $\alpha$ /Glycolysis-Dependent Axis. *Cell Metabolism* *32*, 437-446.e5.
- Cormican, S., and Griffin, M.D. (2020). Human Monocyte Subset Distinctions and Function: Insights From Gene Expression Analysis. *Front. Immunol.* *11*, 1070.
- Dominguez-Andres, J., and Netea, M.G. (2019). Long-term reprogramming of the innate immune system. *J Leukoc Biol* *105*, 329–338.
- Fehr, A.R., and Perlman, S. (2015). Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. In *Coronaviruses*, H.J. Maier, E. Bickerton, and P. Britton, eds. (New York, NY: Springer New York), pp. 1–23.
- Fung, T.S., and Liu, D.X. (2019). Human Coronavirus: Host-Pathogen Interaction. *Annu. Rev. Microbiol.* *73*, 529–557.
- Ge, H., Wang, X., Yuan, X., Xiao, G., Wang, C., Deng, T., Yuan, Q., and Xiao, X. (2020). The epidemiology and clinical information about COVID-19. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* *39*, 1011–1019.
- Geller, A., and Yan, J. (2020). Could the Induction of Trained Immunity by  $\beta$ -Glucan Serve as a Defense Against COVID-19? *Front. Immunol.* *11*, 1782.
- Gomez-Rial, J., Rivero-Calle, I., Salas, A., and Martinon-Torres, F. (2020). Role of Monocytes/Macrophages in Covid-19 Pathogenesis: Implications for Therapy. *IDR Volume* *13*, 2485–2493.
- Grunewald, M.E., Fehr, A.R., Athmer, J., and Perlman, S. (2018). The coronavirus nucleocapsid protein is ADP-ribosylated. *Virology* *517*, 62–68.
- Guan, W., Ni, Z., Hu, Y., Liang, W., Ou, C., He, J., Liu, L., Shan, H., Lei, C., Hui, D.S.C., et al. (2020). Clinical characteristics of 2019 novel coronavirus infection in China (Respiratory Medicine).
- Guilliams, M., Mildner, A., and Yona, S. (2018a). Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. *Immunity* *49*, 595–613.

## Chapitre 5 : Bibliographie

---

Guilliams, M., Mildner, A., and Yona, S. (2018b). Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. *Immunity* 49, 595–613.

Guo, Y.-R., Cao, Q.-D., Hong, Z.-S., Tan, Y.-Y., Chen, S.-D., Jin, H.-J., Tan, K.-S., Wang, D.-Y., and Yan, Y. (2020). The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Military Med Res* 7, 11.

Hartenian, E., Nandakumar, D., Lari, A., Ly, M., Tucker, J.M., and Glaunsinger, B.A. (2020). The molecular virology of coronaviruses. *J Biol Chem* 295, 12910–12934.

van der Heijden, C.D.C.C., Noz, M.P., Joosten, L.A.B., Netea, M.G., Riksen, N.P., and Keating, S.T. (2018). Epigenetics and Trained Immunity. *Antioxidants & Redox Signaling* 29, 1023–1040.

Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T.S., Herrler, G., Wu, N.-H., Nitsche, A., et al. (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., et al. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet* 395, 497–506.

Jamai Amir, I., Lebar, Z., yahyaoui, G., and Mahmoud, M. (2020). Covid-19 : virologie, épidémiologie et diagnostic biologique. *Option/Bio* 31, 15–20.

Keating, S.T., Groh, L., van der Heijden, C.D.C.C., Rodriguez, H., dos Santos, J.C., Fanucchi, S., Okabe, J., Kaipananickal, H., van Puffelen, J.H., Helder, L., et al. (2020). The Set7 Lysine Methyltransferase Regulates Plasticity in Oxidative Phosphorylation Necessary for Trained Immunity Induced by  $\beta$ -Glucan. *Cell Reports* 31, 107548.

Kiefer, J., Zeller, J., Bogner, B., Hörbrand, I.A., Lang, F., Deiss, E., Winninger, O., Fricke, M., Kreuzaler, S., Smudde, E., et al. (2021). An Unbiased Flow Cytometry-Based Approach to Assess Subset-Specific Circulating Monocyte Activation and Cytokine Profile in Whole Blood. *Front. Immunol.* 12, 641224.

Kitamura, T., Doughty-Shenton, D., Cassetta, L., Fragkogianni, S., Brownlie, D., Kato, Y., Carragher, N., and Pollard, J.W. (2018). Monocytes Differentiate to Immune Suppressive Precursors of Metastasis-Associated Macrophages in Mouse Models of Metastatic Breast Cancer. *Front. Immunol.* 8, 2004.

Klok, F.A., Kruip, M.J.H.A., van der Meer, N.J.M., Arbous, M.S., Gommers, D.A.M.P.J., Kant, K.M., Kaptein, F.H.J., van Paassen, J., Stals, M.A.M., Huisman, M.V., et al. (2020). Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thrombosis Research* 191, 145–147.

Lan, J., Ge, J., Yu, J., Shan, S., Zhou, H., Fan, S., Zhang, Q., Shi, X., Wang, Q., Zhang, L., et al. (2020). Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature* 581, 215–220.

Lastrucci, C., Bénard, A., Balboa, L., Pingris, K., Souriant, S., Poincloux, R., Al Saati, T., Rasolofo, V., González-Montaner, P., Inwentarz, S., et al. (2015). Tuberculosis is associated with expansion of a motile, permissive and immunomodulatory CD16+ monocyte population via the IL-10/STAT3 axis. *Cell Res* 25, 1333–1351.

## Chapitre 5 : Bibliographie

---

Lescure, F.-X., Bouadma, L., Nguyen, D., Parisey, M., Wicky, P.-H., Behillil, S., Gaymard, A., Bouscambert-Duchamp, M., Donati, F., Le Hingrat, Q., et al. (2020). Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. *The Lancet Infectious Diseases* 20, 697–706.

Li, Q., Guan, X., Wu, P., Wang, X., Zhou, L., Tong, Y., Ren, R., Leung, K.S.M., Lau, E.H.Y., Wong, J.Y., et al. (2020a). Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus–Infected Pneumonia. *N Engl J Med* 382, 1199–1207.

Li, R., Pei, S., Chen, B., Song, Y., Zhang, T., Yang, W., and Shaman, J. (2020b). Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2). *Science* 368, 489–493.

Lounis, M. (2020). A Descriptive Study of the Current Situation of COVID-19 in Algeria. *Electron J Gen Med* 17, em253.

Lounis, M. (2021). Epidemiology of coronavirus disease 2020 (COVID-19) in Algeria. *New Microbes and New Infections* 39, 100822.

Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., et al. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet* 395, 565–574.

Lund, H., Boysen, P., Åkesson, C.P., Lewandowska-Sabat, A.M., and Storset, A.K. (2016). Transient migration of large numbers of CD14<sup>++</sup> CD16<sup>+</sup> monocytes to the draining lymph node after onset of inflammation. *Frontiers in Immunology* 7, 322.

Mangalmurti, N., and Hunter, C.A. (2020). Cytokine Storms: Understanding COVID-19. *Immunity* 53, 19–25.

Mantovani, A., Dinarello, C.A., Molgora, M., and Garlanda, C. (2019). Interleukin-1 and Related Cytokines in the Regulation of Inflammation and Immunity. *Immunity* 50, 778–795.

Marimuthu, R., Francis, H., Dervish, S., Li, S.C.H., Medbury, H., and Williams, H. (2018). Characterization of Human Monocyte Subsets by Whole Blood Flow Cytometry Analysis. *JoVE* 57941.

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

McPhie, P. (1975). The origin of the alkaline inactivation of pepsinogen. *Biochemistry* 14, 5253–5256.

Michel, C.J., Mayer, C., Poch, O., and Thompson, J.D. (2020). Characterization of accessory genes in coronavirus genomes. *Virol J* 17, 131.

Millet, J.K., and Whittaker, G.R. (2015). Host cell proteases: Critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. *Virus Research* 202, 120–134.

Mishra, S.K., and Tripathi, T. (2021). One year update on the COVID-19 pandemic: Where are we now? *Acta Tropica* 214, 105778.

Moore, J.B., and June, C.H. (2020). Cytokine release syndrome in severe COVID-19. *Science* 368, 473–474.

## Chapitre 5 : Bibliographie

---

- Netea, M.G., and van der Meer, J.W.M. (2017). Trained Immunity: An Ancient Way of Remembering. *Cell Host & Microbe* 21, 297–300.
- Netea, M.G., Joosten, L.A.B., Latz, E., Mills, K.H.G., Natoli, G., Stunnenberg, H.G., O'Neill, L.A.J., and Xavier, R.J. (2016). Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science* 352, aaf1098–aaf1098.
- Netea, M.G., Domínguez-Andrés, J., Barreiro, L.B., Chavakis, T., Divangahi, M., Fuchs, E., Joosten, L.A.B., van der Meer, J.W.M., Mhlanga, M.M., Mulder, W.J.M., et al. (2020). Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nat Rev Immunol* 20, 375–388.
- Nouari, W., Ysmail-Dahlouk, L., and Aribi, M. (2016). Vitamin D3 enhances bactericidal activity of macrophage against *Pseudomonas aeruginosa*. *International Immunopharmacology* 30, 94–101.
- Oberemok, V.V., Laikova, K.V., Yurchenko, K.A., Fomochkina, I.I., and Kubyshkin, A.V. (2020). SARS-CoV-2 will continue to circulate in the human population: an opinion from the point of view of the virus-host relationship. *Inflamm. Res.* 69, 635–640.
- Ożańska, A., Szymczak, D., and Rybka, J. (2020). Pattern of human monocyte subpopulations in health and disease. *Scand J Immunol* 92.
- Palmer, C.S., Anzinger, J.J., Butterfield, T.R., McCune, J.M., and Crowe, S.M. (2016). A Simple Flow Cytometric Method to Measure Glucose Uptake and Glucose Transporter Expression for Monocyte Subpopulations in Whole Blood. *JoVE* 54255.
- Patel, A.A., Zhang, Y., Fullerton, J.N., Boelen, L., Rongvaux, A., Maini, A.A., Bigley, V., Flavell, R.A., Gilroy, D.W., Asquith, B., et al. (2017). The fate and lifespan of human monocyte subsets in steady state and systemic inflammation. *Journal of Experimental Medicine* 214, 1913–1923.
- Pence, B.D. (2020). Severe COVID-19 and aging: are monocytes the key? *GeroScience* 42, 1051–1061.
- Penkov, S., Mitroulis, I., Hajishengallis, G., and Chavakis, T. (2019). Immunometabolic Crosstalk: An Ancestral Principle of Trained Immunity? *Trends in Immunology* 40, 1–11.
- Qiao, J. (2020). What are the risks of COVID-19 infection in pregnant women? *The Lancet* 395, 760–762.
- Queiroz, E.A.I.F., Puukila, S., Eichler, R., Sampaio, S.C., Forsyth, H.L., Lees, S.J., Barbosa, A.M., Dekker, R.F.H., Fortes, Z.B., and Khaper, N. (2014). Metformin Induces Apoptosis and Cell Cycle Arrest Mediated by Oxidative Stress, AMPK and FOXO3a in MCF-7 Breast Cancer Cells. *PLoS ONE* 9, e98207.
- Radwan, G.N. (2020). Epidemiology of SARS-CoV-2 in Egypt. *East Mediterr Health J* 26, 768–773.
- Radzun, H.-J. (2015). Historie und Perspektive des Monozyten-/Makrophagensystems. *Pathologe* 36, 432–442.
- Raj, R. (2021). Analysis of non-structural proteins, NSPs of SARS-CoV-2 as targets for computational drug designing. *Biochemistry and Biophysics Reports* 25, 100847.
- Raybarman, C., and Bhattacharjee, S. (2020). Central and local controls of monocytopoiesis influence the outcome of *Leishmania* infection. *Cytokine* 155325.

## Chapitre 5 : Bibliographie

---

Richardson, A., and Fedoroff, S. (1997). Quantification of Cells in Culture. In *Protocols for Neural Cell Culture*, S. Fedoroff, and A. Richardson, eds. (Totowa, NJ: Humana Press), pp. 219–233.

Rieckmann, A., Villumsen, M., Sørup, S., Haugaard, L.K., Ravn, H., Roth, A., Baker, J.L., Benn, C.S., and Aaby, P. (2016). Vaccinations against smallpox and tuberculosis are associated with better long-term survival: a Danish case-cohort study 1971–2010. *Int. J. Epidemiol.* *dyw120*.

Riksen, N.P., and Netea, M.G. (2021). Immunometabolic control of trained immunity. *Mol Aspects Med* *77*, 100897.

Rutkowska-Zapała, M., Suski, M., Szatanek, R., Lenart, M., Węglarczyk, K., Olszanecki, R., Grodzicki, T., Strach, M., Gąsowski, J., and Siedlar, M. (2015). Human monocyte subsets exhibit divergent angiotensin I-converting activity. *Clin Exp Immunol* *181*, 126–132.

Ryu, S., and Chun, B.C. (2020). An interim review of the epidemiological characteristics of 2019 novel coronavirus. *Epidemiol Health* *42*, e2020006.

Sampath, P., Moideen, K., Ranganathan, U.D., and Bethunaickan, R. (2018). Monocyte Subsets: Phenotypes and Function in Tuberculosis Infection. *Front. Immunol.* *9*, 1726.

Segondy, M. (2020). Coronavirus : la pandémie ! *Revue Francophone des Laboratoires* *2020*, 1.

van Splunter, M., van Osch, T., Brugman, S., Savelkoul, H., Joosten, L., Netea, M., and van Neerven, R. (2018). Induction of Trained Innate Immunity in Human Monocytes by Bovine Milk and Milk-Derived Immunoglobulin G. *Nutrients* *10*, 1378.

Strober, W. (2015). Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. *Current Protocols in Immunology* *111*.

Sumaili, H., Al-Kofide, A., Al-Seraihi, A., Ayas, M., Siddiqui, K., El-Solh, H., Al-Jefri, A., Al-Ahmari, A., Mohamed, A., Anas, M., et al. (2015). Outcome of pediatric patients with lymphoma following stem cell transplant: a single institution report. *Leukemia & Lymphoma* *56*, 1327–1334.

Thomas, G.D., Hamers, A.A.J., Nakao, C., Marcovecchio, P., Taylor, A.M., McSkimming, C., Nguyen, A.T., McNamara, C.A., and Hedrick, C.C. (2017). Human Blood Monocyte Subsets: A New Gating Strategy Defined Using Cell Surface Markers Identified by Mass Cytometry. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* *37*, 1548–1558.

Trzebanski, S., and Jung, S. (2020). Plasticity of monocyte development and monocyte fates. *Immunology Letters* *227*, 66–78.

Verity, R., Okell, L.C., Dorigatti, I., Winskill, P., Whittaker, C., Imai, N., Cuomo-Dannenburg, G., Thompson, H., Walker, P.G.T., Fu, H., et al. (2020). Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. *The Lancet Infectious Diseases* *20*, 669–677.

V'kovski, P., Kratzel, A., Steiner, S., Stalder, H., and Thiel, V. (2021). Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol* *19*, 155–170.

Vrhovac, I., and Breljak, D. Glucose transporters in the mammalian blood cells. *Period Biol* *116*, 8.

Wahl, L.M., Wahl, S.M., Smythies, L.E., and Smith, P.D. (2005). Isolation of Human Monocyte Populations. *Current Protocols in Immunology* *70*.

## Chapitre 5 : Bibliographie

---

- Walls, A.C., Park, Y.-J., Tortorici, M.A., Wall, A., McGuire, A.T., and Velesler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell* 181, 281-292.e6.
- Wang, D., Hu, B., Hu, C., Zhu, F., Liu, X., Zhang, J., Wang, B., Xiang, H., Cheng, Z., Xiong, Y., et al. (2020a). Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA* 323, 1061.
- Wang, W., Xu, Y., Gao, R., Lu, R., Han, K., Wu, G., and Tan, W. (2020b). Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*.
- Weinreb, C., Rodriguez-Fraticelli, A., Camargo, F.D., and Klein, A.M. (2020). Lineage tracing on transcriptional landscapes links state to fate during differentiation. *Science* 367, eaaw3381.
- Wu, C., Liu, Y., Yang, Y., Zhang, P., Zhong, W., Wang, Y., Wang, Q., Xu, Y., Li, M., Li, X., et al. (2020a). Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 10, 766–788.
- Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y.-M., Wang, W., Song, Z.-G., Hu, Y., Tao, Z.-W., Tian, J.-H., Pei, Y.-Y., et al. (2020b). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 579, 265–269.
- Wu, P., Duan, F., Luo, C., Liu, Q., Qu, X., Liang, L., and Wu, K. (2020c). Characteristics of Ocular Findings of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Hubei Province, China. *JAMA Ophthalmol* 138, 575.
- Xia, S., Zhu, Y., Liu, M., Lan, Q., Xu, W., Wu, Y., Ying, T., Liu, S., Shi, Z., Jiang, S., et al. (2020). Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein. *Cell Mol Immunol* 17, 765–767.
- Yáñez, A., Ng, M.Y., Hassanzadeh-Kiabi, N., and Goodridge, H.S. (2015). IRF8 acts in lineage-committed rather than oligopotent progenitors to control neutrophil vs monocyte production. *Blood* 125, 1452–1459.
- Yáñez, A., Coetzee, S.G., Olsson, A., Muench, D.E., Berman, B.P., Hazelett, D.J., Salomonis, N., Grimes, H.L., and Goodridge, H.S. (2017). Granulocyte-Monocyte Progenitors and Monocyte-Dendritic Cell Progenitors Independently Produce Functionally Distinct Monocytes. *Immunity* 47, 890-902.e4.
- Yi, Y., Lagniton, P.N.P., Ye, S., Li, E., and Xu, R.-H. (2020). COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease. *Int. J. Biol. Sci.* 16, 1753–1766.
- Yin, Y., and Wunderink, R.G. (2018). MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia: MERS, SARS and coronaviruses. *Respirology* 23, 130–137.
- Yoshimoto, F.K. (2020). The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19. *Protein J* 39, 198–216.
- Yu, F., Du, L., Ojcius, D.M., Pan, C., and Jiang, S. (2020). Measures for diagnosing and treating infections by a novel coronavirus responsible for a pneumonia outbreak originating in Wuhan, China. *Microbes and Infection* 22, 74–79.
- Zarocostas, J. (2020). What next for the coronavirus response? *The Lancet* 395, 401.

## Chapitre 5 : Bibliographie

---

Zhang, J.-M., and An, J. (2007). Cytokines, Inflammation, and Pain. *International Anesthesiology Clinics* 45, 27–37.

Zhong, C., Yang, X., Feng, Y., and Yu, J. (2020). Trained Immunity: An Underlying Driver of Inflammatory Atherosclerosis. *Front. Immunol.* 11, 284.

Zhou, P., Yang, X.-L., Wang, X.-G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H.-R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C.-L., et al. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579, 270–273.

Ziegler-Heitbrock, L. (2015). Blood Monocytes and Their Subsets: Established Features and Open Questions. *Front. Immunol.* 6.