

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie

مستغانم جامعة عبد الحميد بن باديس



كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M<sup>lle</sup> ABBASSA Fatima Zohra

Mme BOUHALI Asmaa

Pour l'obtention du diplôme de

### MASTER EN BIOLOGIE

**Spécialité : génétique fondamentale et appliquée**

#### THEME

**Extraction d'ADN à partir du sang totale des sujets  
atteints du SARS-COV-2**

Soutenu publiquement le 2021/2022

DEVANT LE \*JURY

Présidente	LAISSOUF Ahlem	M.C.A	Université de Mostaganem, Algérie
Examineur	DALACHE Fatiha	Pr.	Université de Mostaganem, Algérie
Promotrice	DAHMANI Chahinez Amira	M.C.B	Université de Mostaganem, Algérie

Année universitaire : 2021-2022

# **Remerciements**

*On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de M. DAHMANI Chahinez Amira, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier les membres de notre jury composé de :*

*Le président de notre mémoire Mme LAISSOUF Ahlem, Maitre des conférences à l'université de Mostaganem.*

*Et l'Examineur Mme DALACHE Fatiha, Professeur à l'université de Mostaganem d'avoir accepté de juger et examiner notre travail de fin d'études .*

*Nous remercions tout d'abord, la directrice du laboratoire LGMC, USTO-MB, Mme MEROUFEL Naima, de nous avoir accueilli pour réaliser la partie pratique de notre mémoire d'efin d'étude.*

*Nous remercions également le chef de l'équipe de recherche 2 du laboratoire LGMC, Mr. BOUDJEMA Abdallah, d'avoir accepté qu'on réalise nos manipulations en utilisant les différents consommables et réactifs du laboratoire.*

*Nous remercions tous nos enseignants qui nous ont guidé suivi tout au long de notre cursus.*

*Nous remercions particulièrement, Dr. KHALDI Ferdous de nous avoir facilité l'introduction aux différents services de COVID-19 des différents hôpitaux de Mostaganem.*

## *Dédicaces*

Avec l'expression de ma reconnaissance

Je dédie ce modeste travail à mon père et ma mère, la lumière de ma vie pour leur patience, leur amour, leur soutien tout long de mes études et mes frères et ma sœur hasnaa qui m'ont encouragé.

-A ma 2ème Maman

Merci d'être tout le temps à côté de moi et pour ton amour et leurs conseils précieux.

-A mon marié Mohamed et ma fille Razan ,

Merci d'avoir des bonheurs et de motivation et pour ses soutiens moral.

- A ma cousine Halimi merci pour toute

Sans oublier mon binôme Fatima pour sa patience tout au long de ce projet.

-a madame dahmani notre professeure de encadrer.....

**BOUHALI ASMAA**

## ***Dédicace :***

*-A ma chère mère*

*- A mon chère père*

*- Qui n 'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon egarde , de me soutenir et de m'epauler pour que je puisse atteindre mes objectifs*

*-A mes frères et mes sœurs*

*Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études*

*- A ma chère binôme Asmaa*

*Pour son entente et sa sympathie*

*-A ma meilleure copine.hanane*

*- A mon encadreure Mme Dahmani pour leur encadrement tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce mmoire*

**Abbassa fatima zohra**

## Résumé

Au cours de ces dernières années, la biologie moléculaire a modifié considérablement le diagnostic de routine des maladies infectieuses, génétiques et néoplasiques. Toute étude de génétique moléculaire implique la disposition d'échantillon d'acides nucléiques. Les techniques d'extraction d'acides nucléiques sont relativement simples. (Aouf, 2015).

L'étape de l'extraction d'ADN est la première et primordiale étape de toutes les études de biologie moléculaire. L'ADN ainsi extrait peut ensuite être utilisé pour des recherches de biologie moléculaire telles que : le séquençage et la PCR.

Le but de ce travail était d'isoler l'ADN à partir du sang total humain des sujets Covid-19. Nous avons procédé à l'extraction d'ADN des échantillons selon la méthode du *salting-out*. Notre stage pratique nous a permis de prélever 12 patients atteints de Covid-19 dans les trois services de Covid-19 des hôpitaux de Mostaganem. Les résultats de la partie pratique de ce mémoire nous ont permis d'isoler des méduses de différentes tailles à partir des 12 échantillons. Par la suite, nous avons visualisé les ADNs par une étape d'électrophorèse sur gel d'agarose.

Il serait intéressant de continuer l'étape des prélèvements pour enrichir la banque d'ADN des sujets atteints du SARS-COV-2 d'un côté. Et de réaliser une étude de biologie moléculaire afin d'étudier le rôle des polymorphismes génétiques du gène ACE2.

**Mots -clés :** SARS-COV-2, Covid-19, extraction d'ADN, électrophorèse, ACE2.

## **Abstract**

In recent years, molecular biology has considerably changed the routine diagnosis of infectious, genetic and neoplastic diseases. Any study of molecular genetics involves the disposal of nucleic acid samples. Nucleic acid extraction techniques are relatively simple. The DNA extraction step is the first and most important step in all molecular biology studies. The DNA thus extracted can then be used for molecular biology research such as: sequencing and PCR. The aim of this work was to isolate DNA from human whole blood of Covid-19 subjects. We proceeded to extract DNA from the samples using the salting-out method. Our practical internship allowed us to sample 12 patients with Covid-19 in the three Covid-19 departments of Mostaganem hospitals. The results of the practical part of this thesis allowed us to isolate jellyfish of different sizes from the 12 samples. Subsequently, we visualized the DNAs by an agarose gel electrophoresis step. It would be interesting to continue the sampling stage to enrich the DNA bank of subjects with SARS-COV-2 on one side. An to carry out a molecular biology study in order to study the role of genetic polymorphisms of the ACE2 gene.

**Keywords:** SARS-COV-2, Covid-19, DNA extraction, electrophoresis, ACE2.

## ملخص

في السنوات الأخيرة ، غيرت البيولوجيا الجزيئية إلى حد كبير التشخيص الروتيني للأمراض المعدية والوراثية والأورام. تتضمن أي دراسة للوراثة الجزيئية التخلص من عينات الحمض النووي. تقنيات استخراج الحمض النووي بسيطة نسبياً. (عوف ، 2015). خطوة استخراج الحمض النووي هي الخطوة الأولى والأكثر أهمية في جميع دراسات البيولوجيا الجزيئية. يمكن بعد ذلك استخدام الحمض النووي المستخرج في أبحاث البيولوجيا الجزيئية مثل: التسلسل و PCR. كان الهدف من هذا العمل هو عزل الحمض النووي من الدم البشري الكامل للأشخاص المصابين بفيروس Covid-19. شرعنا في استخراج الحمض النووي من العينات باستخدام طريقة التلميح. سمح لنا التدريب العملي لدينا بأخذ عينات من 12 مريضاً مصاباً بـ Covid-19 في أقسام Covid-19 الثلاثة في مستشفيات مستغانم. سمحت لنا نتائج الجزء العملي من هذه الأطروحة بعزل قنديل البحر بأحجام مختلفة من 12 عينة. بعد ذلك ، تصورنا الحمض النووي من خلال خطوة الاغاروز الكهربائي للهلام. سيكون من المثير للاهتمام مواصلة مرحلة أخذ العينات لإثراء بنك الحمض النووي للمواضيع مع SARS-COV-2 على جانب واحد. والقيام بدراسة البيولوجيا الجزيئية بهدف دراسة دور تعدد الأشكال الوراثي لجين

**الكلمات المفتاحية:** سارس كوف 2، كوفيد 19، استخراج الحمض النووي ، الرحلان الكهربائي ، ACE2.

## Table de matière

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	1

### Partie bibliographique

#### Chapitre I : Les virus sars cov et mers cov

I. Les virus sars cov et mers cov .....	3
I.1. Les coronavirus .....	<b>3</b>
I. 1.1. Les coronavirus humains .....	3
I.1.1.1. SARS-CoV .....	3
I.1.1.2. Le MERS-CoV .....	4
I.1.1.3. Le SARS-CoV-2 .....	5
I.2. Apparition du SARS -COV -2 .....	6
I.2.1. Éléments historiques .....	6
I.2.2. Classification .....	7
I.3. Le cycle viral des coronavirus .....	8
I.3.1. Liaison du SARS-CoV-2 et pénétration dans les cellules .....	9
I.3.2. L'origine .....	10
I.3.3. Transmission .....	11
I.4. Epidémiologie .....	11



I.4.1. La Chine premier foyer .....	11
I.4.2. L'Europe : peu préparée .....	11
I.4.3. Les Etats-Unis : plus grand foyer épidémique .....	12
I.4.4. L'Afrique : résultats partiellement connus .....	12
I.4.5. L'Algérie .....	12

## **Chapitre II : Aspect Clinique et sérologique**

II.1. Aspect Clinique et sérologique : .....	13
II.1.1. Symptôme du COVID-19 : .....	13
II.1.2. Aspect clinique de la malade covid 19 : .....	14
II.1.2.1. Signes cliniques .....	14
II.1.2.2. Facteurs de risque de gravité .....	15
II.1.2.3.Éléments paracliniques (à l'exclusion du diagnostic virologique) .....	16
II.2. La sérologie .....	18
II.2.1. La période d'incubation .....	19
II.3. Les tests d'identification : .....	19
II.3.1. Test nasopharyngé RT- PCR .....	19
II.3.2. Test salivaire : RT-LAMP .....	20
II.3.3. Les tests antigéniques .....	21
II.3.4. Les tests sérologiques d'orientation rapide (TROD) .....	22

## **Chapitre III : Traitement et Prévention**

III.1. Traitement et Prévention .....	23
III.2. Les vaccins .....	23
III.2.1. Composition d'un vaccin .....	23
III.2.2. Classification des vaccins .....	24
III.2.2.1. Les vaccins vivants atténués .....	24
III.2.2.2. Les vaccins inactivés ou tués .....	25
III.2.2.3. Les sous-unités vaccinales.....	25

III.2.3.. But de la vaccination .....	25
---------------------------------------	----

## **Chapitre IV**

IV.1. Structure protéines du virus .....	26
IV.2. Les protéines structurales : .....	27
IV.2.1. La protéine S .....	27
IV.2.2. La Protéine M .....	27
IV.2.3. La Protéine E : .....	27
IV.2.4. La protéine N .....	28
IV.3. Protéines non structurales .....	28
IV.4. Génome de virus sarc- cov 2 .....	28
IV.5. Origine moléculaire de SARC-COV-2 .....	29

## **Chapitre V :**

V.1. Le revenu de solidarité active (RSA) .....	31
V.1.1. ACE2 et COVID-19 .....	32
V.1.2. IEC-ARAI et COVID-19 .....	34
Objectif .....	37

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I : Matériels et méthodes**

I.1. Matériel : .....	38
I.1.1. Population d'étude .....	38
I.1.2. Le matériel utilisé pour l'extraction d'ADN .....	38
I.1.3. Matériel de l'électrophorèse .....	39
I.2. Méthode .....	39
I.2 .1. La méthode saline " salting out " .....	39
2.2. Extraction d'ADN à partir du sang total par la technique du « <i>salting out</i> » .....	40
I.2.2.1. Lyse des globules rouges .....	40

I.2.2.2.Lyse des globule blancs .....	41
I.2.2.3.Précipitation de l'ADN .....	41
I.2.2.4.Récupère la méduse .....	41
I.2.3. Visualisation de l'ADN extrait par électrophorèse sur gel d'agarose.....	42
I.2.4. Analyse statistique .....	43

## **Chapitre II : Résultats et Discussion**

II.1.Population d'étude .....	44
II.2.Caractéristiques épidémiologiques des sujets de l'étude .....	44
II.3.Résultats de l'extraction d'ADN .....	46
II.4.Résultats de l'électrophorèse .....	46
II.5. Discussion .....	47
<b>Conclusion .....</b>	<b>48</b>
<b>Référence bibliographiques .....</b>	<b>49</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>62</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

- ACE** : Enzyme de conversion de l'angiotensine
- ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- ARN** : Acide Ribonucléique
- ARNt** : Acide Ribonucléique de transfert
- ARN g** : Acide Ribonucléique génomique
- ARNsg** : Acide Ribonucléique sub-génomique
- ALAT** : alanines aminotransférase
- ASAT** : aspartates aminotransférase
- BAT-COV** : beta-corona virus (bat en anglais)
- COVID-19** : Corona virus Disease 2019
- CPK** : Créatine phosphokinase
- CTD** : Domaine C-terminal
- DPP4** : Dipeptidyl peptidase-4
- ERGIC** : Compartiment Intermédiaire entre le Réticulum Endoplasmique et le Golgi
- EHPAD** : établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes
- FCOV** : Coronavirus félin
- HAS** : Haute Autorité de santé
- HPV** : Papillomavirus humains
- ICTV** : Comité international de taxonomie
- ICT** : immun chromatographiques
- IBV** : Virus de la bronchite infectieuse
- IDR** : Région intrinsèquement dispersée
- IEC** : Enzyme de conversion de l'angiotensine
- LDH** : des lactates déshydrogénase
- LKR** : Région de liaison
- MERS-COV** : Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient
- NTD** : Domaine N-terminal
- NSP** : Non-Structural Proteins
- OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**ORF** : Open Reading Frame

**Protéine S** : Spike ( spicule )

**Protéine M** : Matrice

**Protéine N** : Nucléocapside

**Protéine E** : Enveloppe

**PCR** : Polymerase Chain reaction

**RT-PCR** : Reverse –Transcription-Polymerase Chain Reaction

**RDRP** : ARN polymérase ARN-dépendante

**SARS-COV** : Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère

**SARS-CoV-2** : Coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère

**SDRA** : Syndrome de Détresse Respiratoire Aigue

**SRA**: Le revenu de solidarité active

**SLB** : la solution de lyse des globules blancs

**SDS** : sodium d'eaux distillai sulfate

**TMPRSS2** : Transmembrane Protéase Serine 2

**TDM** : Tomodensitométrie

**TROD** : Tests sérologiques d'orientation rapide

**V&V** : : Vaccins et vaccination

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau n°1</b> : : Classification des patients COVID 19 selon les décès de sévérité la maladie (De Greef et al .,2020).....	<b>13</b>
<b>Tableau n°2</b> : Comparatif des teste .....	<b>22</b>
<b>Tableau n°3</b> : Répartition des patients prélèves .....	<b>44</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure n° 1</b> : Représentation schématique d'un coronavirus (Juckel D et al., 2020). .....	3
<b>Figure n°2</b> : Classification des coronavirus et taxonomie des coronavirus humains .....	7
<b>Figure n° 3</b> : Cycle viral des coronavirus (Juckel D et al., 2020). .....	8
<b>Figure n°4</b> :Pénétration du SARS-COV-2 dans la cellule(Bourdon B ,2020). .....	9
<b>Figure n°5</b> :le cycle viral des coronavirus (Bourdon B ,2020). .....	10
<b>Figure n°6</b> :Infectiosité du SARS-CoV-2 .....	19
<b>Figure n°7</b> : Cinétique des marqueurs virologiques au cours de l'infection au Sars-Cov-2 .....	21
<b>Figure n°8</b> : Structure d'un coronavirus .....	26
<b>Figure n°9</b> : Structure schématisée du génome du SARS-COV-2.....	29
<b>Figure n° 10</b> : Système rénine-angiotensine (Mercadier J-J., 2003) .....	31
<b>Figure n°11</b> :Vue générale du système rénine-angiotensine-aldostérone en situation physiologique .....	33
<b>Figure n°12</b> :Vue générale du système rénine-angiotensine-aldostérone en cas d'infection par le COVID-19 .....	36
<b>Figure 13</b> : Photo prise pendant l'étape de lavage de type de sang (A) et la dernière phase de lavage (B) .....	40
<b>Figure 14</b> : Photo prise de protéinase K .....	41
<b>Figure 15</b> : La rince de la méduse d'ADN à l'éthanol 70 % et 100 % (C) et d' un solution d'éthanol absolue froid (D) .....	42
<b>Figure 16</b> : 12 les échantillons de l' ADN (E) sur la bain-marie (F) . .....	42
<b>Figure 17</b> : Répartition des sujets Covid-19 selon le sexe .....	45
<b>Figure 18</b> : Répartition des sujets Covid-19 selon le groupe sanguin ABO .....	45
<b>Figure 19</b> : Obtention de la méduse d' ADN .....	46

**Figure 20** : Résultat d' un électrophorèse sur Gel d' agarose .....47





# **INTRODUCTION**

# Introduction

---

À la fin de l'année 2019, plusieurs cas de pneumonies atypiques sévères sont recensés dans la ville de Wuhan, dans la province du Hubei en République Populaire de Chine. Déclarés à l'OMS par les autorités chinoises, l'émergence d'un nouveau coronavirus, similaire au SARS-CoV (Sévère Acute Respiratory Syndrome Corona Virus) de 2002, est alors suspectée (**Zhu et al., 2019**). La Covid-19 (Coronavirus Disease-19), une épidémie virale qui s'est déclenchée en Chine en 2019, est devenue une crise sanitaire mondiale. L'absence d'un vaccin adéquat de la pandémie dans un premier temps contre SARS-CoV-2 (Sévère Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2) a poussé les chercheurs à faire des recherches scientifiques pour atténuer et guérir les symptômes de la maladie (**Weng. J., 2020**).

La pandémie à coronavirus est causée par le virus SARS-CoV-2 qui a montré une capacité de propagation importante par rapport aux précédents virus SARS-Cov et MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome-related coronavirus). Ceci est vraisemblablement dû aux particularités intrinsèques du virus SARS-CoV-2 mais également à une vulnérabilité de l'hôte humain. Plusieurs facteurs peuvent être incriminés dans la sensibilité à l'infection et à la sévérité de la maladie, parmi eux le facteur génétique. Les données recueillies ont montré une influence potentielle de certains variant rares/polymorphismes des gènes suscités dans le développement de la COVID-19 et que cette influence est variable d'une population à une autre. L'identification et la compréhension des mécanismes génomiques sous-jacents à cette maladie permettraient de mettre en place des stratégies nouvelles de thérapie et de prévention (**Boudjema A., 2021**).

Au cours de ces dernières années, la biologie moléculaire a modifié considérablement le diagnostic de routine des maladies infectieuses. Toute étude de génétique moléculaire implique la disposition d'échantillon d'acides nucléiques. Les techniques d'extraction d'acides nucléiques sont relativement simples. (**Aouf, 2015**). En effet, l'extraction d'ADN est la première étape dans la plupart des études de biologie moléculaire, elle consiste à la lyse hypotonique des globules rouges, puis la lyse des protéines nucléaires et cellulaires. L'ADN nucléaire ainsi libéré est associé aux différentes protéines qui seront digérées et éliminées par les solvants non organiques (Méthode au NaCl la plus utilisée dans les laboratoires de biologie moléculaire).

## Introduction

---

Dans ce travail de mémoire, nous nous sommes intéressées à extraire de l'ADN génomique à partir du sang total humain des sujets atteints de Covid-19 par la technique au NaCl. Nous avons pu réaliser un prélèvement de 12 échantillons de sang total dans les trois services « COVID-19 » dans les hôpitaux de Mostaganem (ADJEL BELLATRACH /CHG-VARA /HAMADO AL HOUCINE). Par la suite, les ADNs extraits ont été visualisé par une étape d'électrophorèse sur gel d'agarose à 1%.

# **Partie**

# **bibliographique**

**CHAPITRE I**  
**Les virus sars cov**  
**et mers cov**

## I. Les virus sars cov et mers cov :

### I.1. Les coronavirus :

Découverts au cours des années 1960, les coronavirus appartiennent à l'ordre des Nidovirales et plus particulièrement à la famille des Coronaviridae. Ces virus sont retrouvés majoritairement chez les oiseaux et les mammifères (Juckel D et al., 2020). Cette famille est composée de quatre genres : les Alpha-, Beta-, Gamma- et Delta-coronavirus. Les coronavirus sont des virus à ARN simple brin positif enveloppés (Zhu N et al., 2020) (Figure 1).

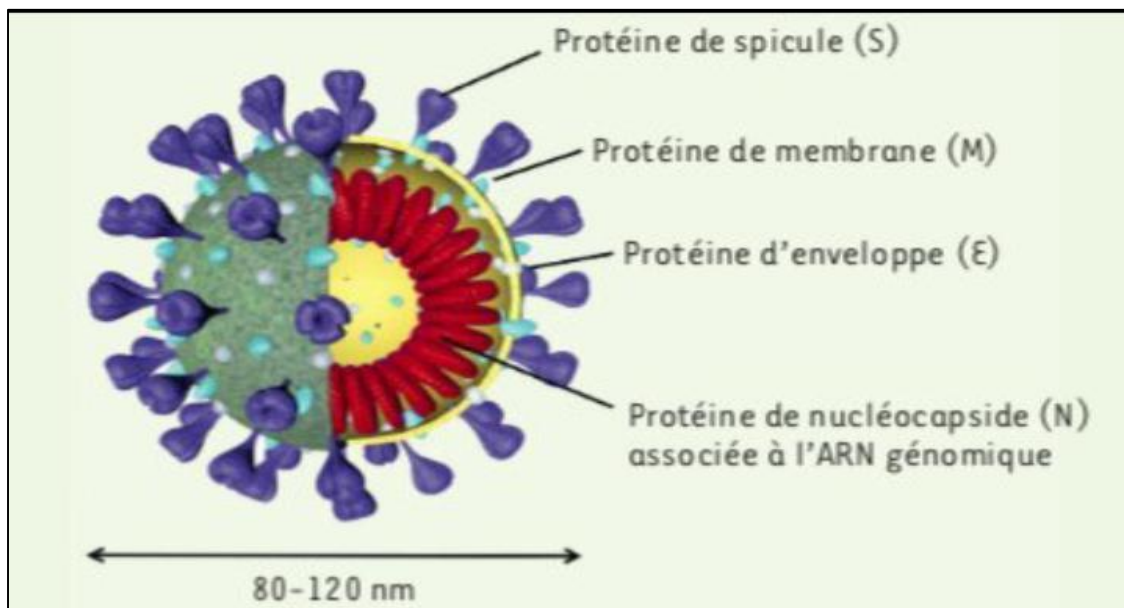


Figure n° 1 : Représentation schématique d'un coronavirus (Juckel D et al., 2020).

### 1.1. Les coronavirus humains :

#### 1.1.1. SARS-CoV :

À la fin de l'année 2002, à la suite de l'émergence du premier coronavirus humain hautement pathogène, le SARS-CoV (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus), responsable du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS). Ce nouveau virus a émergé dans la province du Guangdong dans le sud-est de la Chine. En juin 2003, à la fin de l'épidémie qu'il avait entraînée et qui avait été contenue grâce à la mise en place de mesures de quarantaine, 8 000 cas de SRAS avaient été déclarés à l'Organisation mondiale de la santé (OMS) à travers le monde, marqués par 800 décès (De Wit Eet al., 2016).

Rapidement, la question de l'origine de ce virus s'est posée, et son origine zoonotique, c'est-à-dire sa transmission à partir d'un réservoir animal, fut montrée. Une espèce de chauve-souris de la famille des *Rhinolophidae* fut ainsi identifiée comme étant l'hôte réservoir du SARS-CoV grâce à la détection d'anticorps spécifiques de ce coronavirus émergent par des analyses sérologiques réalisées chez l'animal (**De Wit E et al., 2016**).

Des civettes palmistes (*Pagumalarvata*) provenant d'un marché animalier furent également testées positives par des tests sérologiques détectant des anticorps contre le SARS-CoV, alors que d'autres, sauvages ou issues d'un élevage, se révélèrent négatives dans ces tests. La civette 524 ne pouvait donc pas être un hôte réservoir naturel pour le virus, mais elle fut alors considérée comme un hôte intermédiaire, dans lequel le virus s'était adapté, devenant capable de passer dans l'espèce humaine. C'est donc cet hôte intermédiaire, infecté par des chauves-souris, qui a transmis le virus à l'homme en 2002. On parle dans ce cas d'une transmission zoonotique (**De Wit E et al., 2016**).

### 1.1.2. Le MERS-CoV :

Dix ans plus tard, un nouveau coronavirus, le MERS-CoV (Middle-East Respiratory Syndrome Coronavirus), fait son apparition. Il apparaît dans la péninsule arabique. Il s'agit d'un virus qui s'avère plus dangereux que le SARS-CoV de 2002, avec un taux de mortalité estimé à 35 % chez l'homme (**Vabret A et al., 2009**). Le MERS-CoV s'attaque aux voies respiratoires. Il peut provoquer de la fièvre et de la toux, ainsi que de graves pneumonies pour les cas les plus sévères. Les personnes qui présentent des insuffisances cardiovasculaires ou rénales et les personnes immunodéprimées ou diabétiques, sont plus à risque de développer une forme grave de la maladie. Le foyer épidémique était essentiellement situé au Moyen-Orient, mais 27 pays ont déclaré des cas d'infection par le MERS-CoV à l'OMS ; il s'agissait pour la plupart des patients de cas importés. Ainsi, en 2015, un voyageur de retour du Moyen-Orient a été à l'origine d'une épidémie de 185 cas en Corée du Sud, révélant l'importance, alors, de la détection rapide des cas d'infection après un séjour dans la péninsule arabique.

Contrairement au SARS-CoV, le MERS-CoV circule toujours. Il a infecté environ 2 500 personnes, provoquant la mort de plus de 800 d'entre elles. Le faible nombre de cas déclarés, comparé à celui provoqué par le SARS-CoV, s'explique par une mauvaise adaptation du virus à l'homme, rendant la transmission interhumaine plus difficile (**Vabret A et al., 2009**).

Comme pour les civettes palmistes dans le cas du SARS-CoV, des anticorps spécifiques du MERS-CoV ont été mis en évidence dans le sérum de dromadaires, révélant le possible rôle



de cet animal dans la transmission. La circulation de souches de MERS-CoV, identiques chez l'homme et le dromadaire, a également été montrée (**De Wit *et al.*, 2016**). Dans le cas de ce virus, la transmission inter-espèces a été rendue possible par les contacts rapprochés entre les hommes et les dromadaires, mais aussi par la consommation de produits provenant de ces animaux, comme le lait, très prisé dans les pays arabes. Le MERS-CoV ne se transmet pas facilement d'homme à homme. Des mesures de quarantaine permettent de contenir facilement sa transmission. Il est néanmoins probable que le virus ait été régulièrement introduit dans la population humaine par les dromadaires. Des virus proches du MERS-CoV (en anglais, MERS-likeCoV) ont été identifiés chez des chauves-souris, suggérant de nouveau une transmission zoonotique, d'abord des chauves-souris vers le dromadaire, puis du dromadaire à l'homme (**De Wit *et al.*, 2016**).

### 1.1.3. Le SARS-CoV-2 :

Fin décembre 2019, plusieurs cas de pneumonies inexplicables surviennent concomitamment dans la ville de Wuhan, dans la Province Chinoise du Hubei, 7<sup>e</sup> ville chinoise, peuplée de 11 millions d'habitants. Le cluster semble centré sur le South China SeafoodMarket, un vaste marché de fruits de mer et d'animaux vivants. Le 30 décembre, l'administration de Wuhan émet un premier avis d'alerte avec des recommandations concernant la prise en charge de cette infection. La première mention de cette épidémie hors de Chine date également du 30 décembre 2019, au travers d'un Post sur la lettre d'information (**PROMEDMAIL, 2021**).

L'étiologie en reste indéterminée, et la question d'une origine bactérienne (peste, le gionellose), ou d'une infection virale (précédent SARS-CoV) est posée. Le lendemain, un symposium urgent est tenu dans la ville de Wuhan à propos du traitement de cette pneumonie et le bureau régional de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) est informé de 44 cas de pneumonies inexplicables, dont 11 patients dans un état grave (**Wu F *et al.*, 2020**).

Des analyses ultérieures démontreront que le virus circule déjà depuis plusieurs semaines. Le 1<sup>er</sup> janvier, le marché de Wuhan est fermé pour des raisons sanitaires. Le virus sera identifié rapidement comme appartenant à la famille des Coronaviridae (**Wu Z *et al.*, 2020**) apparenté au virus du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS). Le virus sera plus tard baptisé sévère acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), tandis que la maladie qu'il engendre recevra le nom de COVID-19 pour Coronavirus disease 2019 (**Gorbalenya *et al.*, 2020**).

## 2. Apparition du SARS -COV -2 :

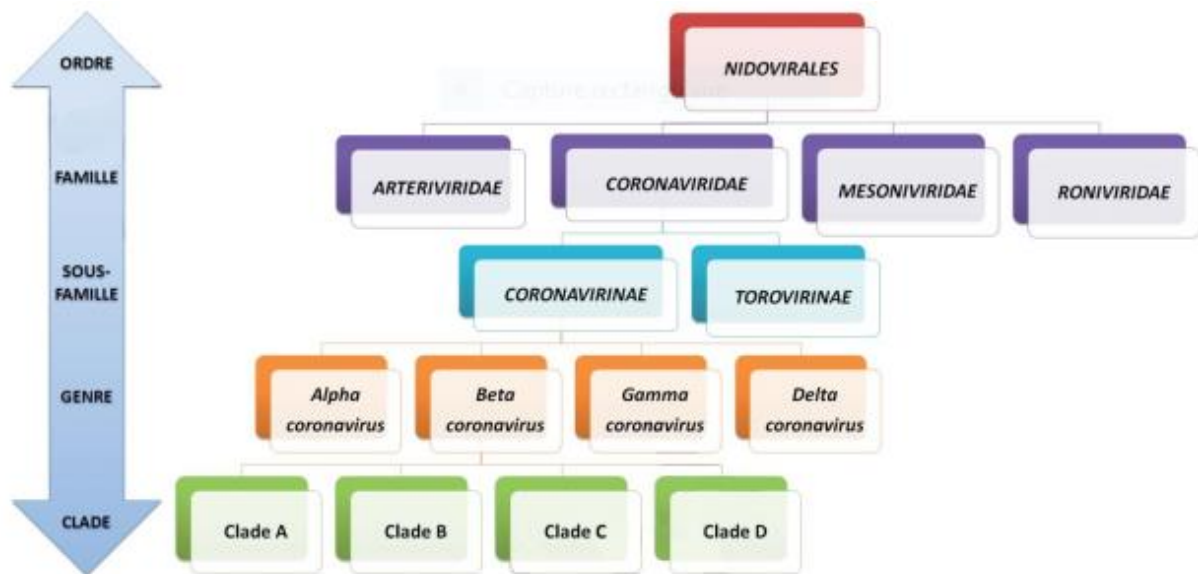
### 2.1.Éléments historiques :

Les coronavirus (CoV) consistent en des virus qui infectent plusieurs espèces. Les premiers CoV se rapportent aux animaux et n'ont d'abord pas reçu l'appellation « coronavirus », apparue plus tardivement dans le 1er rapport du Comité international de taxonomie virale (ICTV) en 1971 (ICTV,2011).

En 1968, le terme « coronavirus » fait officiellement son apparition dans la revue Nature. Ce nouveau groupe de virus se définit alors, à partir de critères essentiellement morphologiques. Il faut attendre mars 2003, et l'identification du coronavirus le Sars-CoV qui est l'agent infectieux responsable du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SRAS) (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus) pour que les coronavirus suscitent l'intérêt de la communauté médicale et scientifique. En effet, le SARS-Cov se trouve à l'origine de la première pandémie infectieuse du XXIe siècle. En septembre 2012, un nouveau coronavirus, le MERS COV émerge au Moyen-Orient (Middle-East respiratory syndrome-related coronavirus, MERS-CoV), plus précisément en Arabie Saoudite, responsable d'un syndrome respiratoire sévère, confirmant le haut potentiel d'émergence de ces virus. Enfin, le dernier coronavirus humain en date, le SARS-Cov-2 apparaît à Wuhan en Chine, il s'avère responsable d'une sévère pandémie en 2020. (Hediye-bag D., 2021).

**2.2. Classification :**

Les coronavirus sont des virus qui appartiennent à l'ordre des Nidovirales et à la famille des Coronaviridae, elle-même subdivisée en 2 sous-familles, les Coronavirinae et les Torovirinae. Dans la taxonomie actuelle, la famille des Coronavirinae comprend 4 genres appelés Alpha -, Beta -, Gamma - et Delta coronavirus. Tandis que les Alpha coronavirus et Beta coronavirus infectent principalement les mammifères, ainsi que les chauves-souris, les Gamma coronavirus et les Delta coronavirus touchent surtout les oiseaux. **(Hediye-bag D .,2021)**



**Figure n°2 : Classification des coronavirus et taxonomie des coronavirus humains (Astrid V et Meriadeg Ar., 2020).**

### 3. Le cycle viral des coronavirus

Le cycle du virus dans la cellule se décompose en trois grandes étapes : (1) l'entrée du virus dans la cellule hôte, (2) la réplication du génome et (3) la formation et la sécrétion de nouveaux virions (Juckel *Det al.*, 2020)(Figure 3).

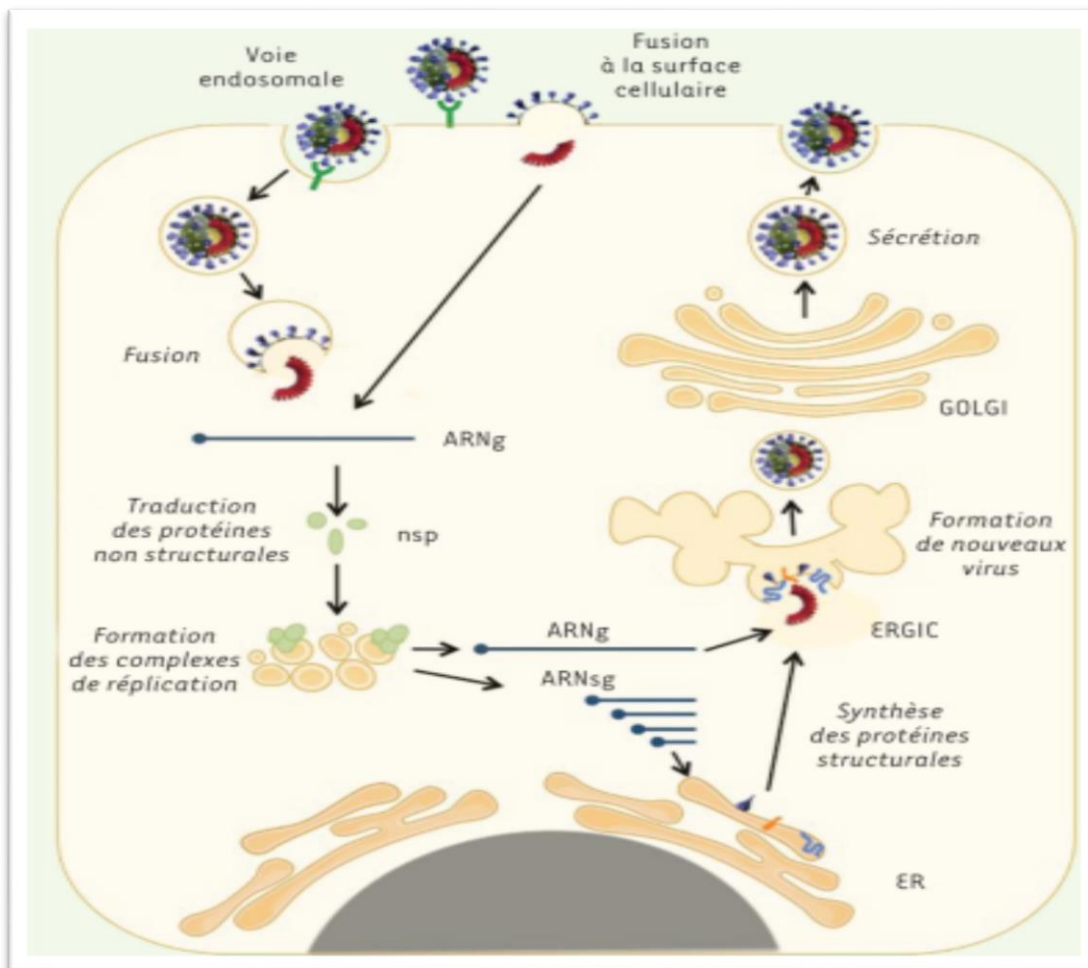


Figure n° 3 : Cycle viral des coronavirus (Juckel D *et al.*, 2020).

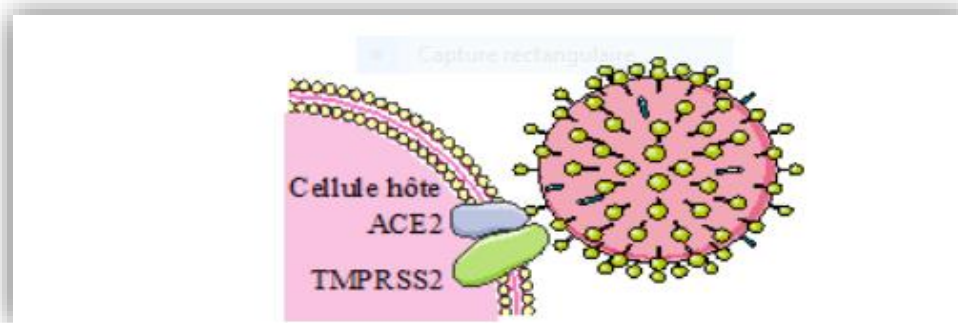
L'entrée du virus dans la cellule constitue la première étape du cycle viral. Le virus lie un récepteur à la surface des cellules (en vert, DPP4 pour le MERS-CoV ou ACE2 pour les SARS-CoV et SARS-CoV-2). Le virus libère son génome dans la cellule cible après fusion de

son enveloppe lipidique avec une membrane de celle-ci. En fonction des protéases présentes, cette fusion peut avoir lieu directement avec la membrane de la surface cellulaire ou dans des endosomes après internalisation du virus. Le génome est ensuite traduit pour produire les protéines non-structurales qui vont former les complexes de réplication et induire des réarrangements de membrane.

La réplication du génome va permettre la formation de nouveaux ARN génomiques (ARNg) qui pourront être incorporés dans les particules virales néo-synthétisées. Les protéines de structure du virus (S, E, M et N) sont produites à partir des ARN sous-génomiques (ARNsg). Les nouvelles particules virales sont assemblées au niveau du Compartiment intermédiaire entre le réticulum endoplasmique et le Golgi (ERGIC). Elles sont ensuite sécrétées dans le milieu extra cellulaire. (Juckel *Det al.*, 2020).

### 3.1. Liaison du SARS-CoV-2 et pénétration dans les cellules :

La première étape de ce processus consiste dans l'entrée du matériel viral dans le cytoplasme après franchissement de la membrane cellulaire. La protéine S se lie au récepteur cellulaire de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) que l'on trouve à la surface des pneumocytes, cellules endothéliales, cellule de l'endocarde, du foie et de façon importante dans l'intestin. Le Sars-CoV-2 peut ainsi se lier à plusieurs tissus chez une même personne. Ceci explique vraisemblablement l'existence de symptômes extra pulmonaires. Mais le mécanisme pour lequel les récepteurs ACE2 sont activés au niveau de ces organes reste à déterminer (Hediye-bag *D.*, 2021).



**Figure n°4 :** Pénétration du SARS-COV-2 dans la cellule (Bourdon *B.*, 2020).

Après fixation à l'ACE2, la spicule virale (S) est coupée en deux parties par une protéase (enzyme qui coupe les protéines) de la cellule hôte. Cet événement moléculaire s'avère nécessaire pour exposer une partie de la séquence polypeptidique de S appelée « peptide de fusion » qui s'insère dans la membrane cellulaire. S'ensuit un rapprochement entre l'enveloppe

du virus et la membrane cellulaire, toutes deux formées par une bicouche lipidique qui fusionneront donc ensuite (Bourdon B.,2020). Parmi ces protéases, la molécule TMPRSS2 qui présente à la surface de la cellule permet la fusion du virus avec la membrane plasmique de la cellule hôte. Le virus peut également entrer par « endocytose » : la fixation de Spike à ACE2 va induire une invagination de la membrane plasmique, englobant le virus qui rentre dans un « endosome » où une protéase, activée par l'acidité de ce compartiment, permettant de déclencher la fusion entre la membrane en dos male et la membrane virale. La fusion entre les membranes cellulaires et virales libère l'ARN viral dans le cytoplasme cellulaire où se met en place la réplication du virus. Une fois à l'intérieur de la cellule hôte, le virus va détourner la machinerie cellulaire de production de protéines au profit de la synthèse de ses propres composants. L'ARN viral se traduit par les ribosomes. Ce processus met en jeu les ARN de transferts cellulaires (ARNt) qui mettent en correspondance un « codon » de trois nucléotides et un acide aminé donné. (Hediye-bag D.,2021).

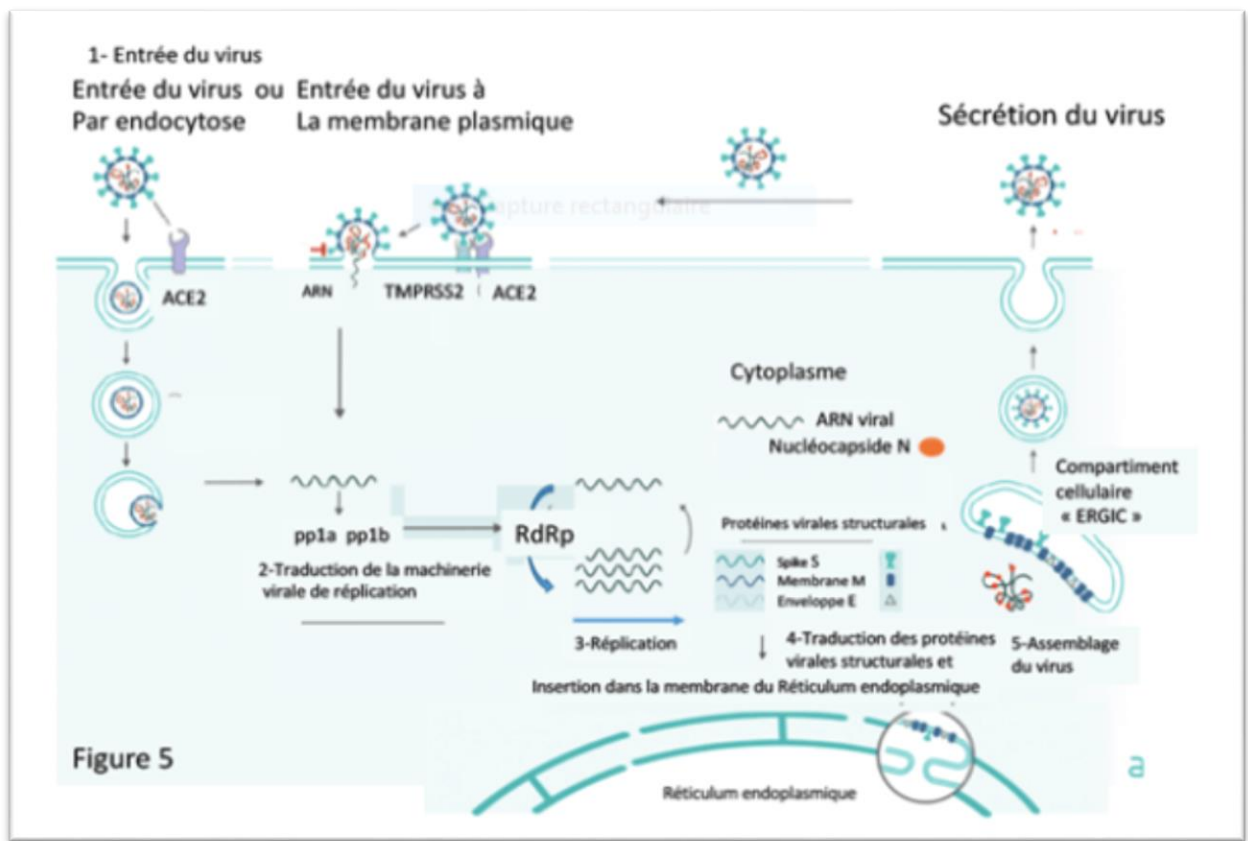


Figure n°5:le cycle viral des coronavirus(Bourdon B,2020).

### 3.2. L'origine :

L'origine du SARS-CoV-2 ne s'avère pas totalement connue. Les coronavirus se révèlent particulièrement fréquents chez les chauves-souris, le SARS-Cov-2 présente une homologie de 96 % avec cette espèce (Zhang Tet *al.*,2020) Ils ne franchissent qu'épisodiquement la barrière d'espèces pour infecter l'homme. Les chercheurs pensent que la transmission a eu lieu par le biais d'un hôte intermédiaire : le pangolin qui présente une similitude de 91 % avec le Sars-Cov-2(Kakodkar Pet *al.*,2020).

### 3.3. Transmission :

Le SARS-CoV-2 se transmet essentiellement par l'émission de gouttelettes respiratoires. Ces gouttelettes chargées de particules virales peuvent infecter un sujet soit par contact direct avec une muqueuse (transmission directe) soit par contact avec une surface infectée par les muqueuses nasales, buccales ou conjonctivales (transmission indirecte). Ces gouttelettes peuvent se retrouver sur des surfaces où le virus demeure viable. En effet, le virus survit jusqu'à 3 heures sur des surfaces inertes sèches et jusqu'à 6 jours en milieu humide. Le virus peut se retrouver dans des liquides biologiques à l'instar des selles, toutefois le risque de transmission fécale du virus n'a pas encore été prouvé (Zhang T *et al.*,2020).

## 4. Epidémiologie :

### 4.1. La Chine premier foyer :

L'épidémie de COVID-19 a commencé à Wuhan, dans la province du Hubei, en Chine. Elle s'est ensuite propagée en un mois au reste de la Chine continentale, Puis aux pays voisins et enfin, à l'échelle internationale en janvier 2020. Le 23 janvier, la Chine ordonne le premier confinement en masse de l'histoire (plus de 50 millions de personnes). Le 11 mars, l'OMS qualifie la COVID-19 de pandémie. Le 16 mars, l'OMS dénombre presque autant de cas en Chine que hors de Chine : soit 165 515 cas confirmés dans le monde, dont 81 077 en Chine et 86 438 hors de Chine, dont 3 218 décès en Chine et 3 388 hors de Chine(OMS., 2021).

### 4.2. L'Europe : peu préparée :

Presque aucun pays européen n'était vraiment préparé à l'épidémie de COVID-19 en dépit de l'observation des événements en Chine pendant plus d'un mois. Dans les pays européens, les mesures de confinement n'ont pas été aussi strictes ni imposées aussi rapidement qu'en Chine. Le 10 mars 2020, tous les pays de l'Union européenne se trouvent désormais touchés par la maladie COVID-19 (Hediye-Bag D.,2021).

### 4.3. Les Etats-Unis : plus grand foyer épidémique :

Les États-Unis ont fait face à une accélération du nombre de cas quotidiens et comptent le plus grand nombre de cas et de décès. Fin janvier 2021, les Etats-Unis dénombrent environ 450 000 décès dus à la maladie COVID-19 (**Coronavirus statistiques Etats-Unis ., 2021**).

### 4.4. L'Afrique : résultats partiellement connus :

La transmissibilité du SARS-CoV-2, combinée à la pénurie d'équipements et d'installations sanitaires essentielles et aux difficultés de mise en œuvre d'un isolement des cas à grande échelle, était censée entraîner un impact dévastateur de la COVID-19 sur les pays africains. Ces prévisions ne se sont pas concrétisées. L'Afrique apparaît relativement épargnée par la pandémie du coronavirus et le nombre de cas s'avère en baisse. Ainsi la pandémie se manifeste surtout dans la tranche d'âge plus jeune. Selon l'OMS, environ 91% des cas d'infection par le COVID-19 concernent des personnes de moins de 60 ans et plus de 80% des cas se révèlent asymptomatiques (**OMS., 2020**).

### 4.5. L'Algérie :

L'Algérie a compté 42 619 cas en 2020, ce qui en a fait l'un des pays les plus touchés d'Afrique avec l'Afrique du Sud, l'Égypte, le Nigeria, le Maroc et le Ghana. Il est également le troisième pays en termes de décès avec un nombre de 1 465 après l'Afrique du Sud (13 308) et l'Égypte (5 298) (**Joffé, 2020**).



**Chapitre II :**  
**Aspect Clinique**  
**et sérologique**

**I. Aspect Clinique et sérologique :**

**1.1. Symptôme du COVID-19 :**

Les symptômes les plus courants sont les suivants : La Fièvre, Toux sèche et Fatigue. D’autres symptômes moins courants peuvent toucher certains patients : Perte du goût et de l’odorat, Congestion nasale, Conjonctivite (yeux rouges), Mal de gorge, Maux de tête, Douleurs musculaires ou articulaires, Différents types d’éruption cutanée, Nausées ou vomissements, Diarrhée et Frissons ou vertiges. Les symptômes de la forme grave de COVID-19 sont les suivants : Essoufflement, Perte d’appétit, État confusionnel, Douleurs ou sensation d’oppression persistante dans la poitrine et Température élevée (supérieure à 38° C). D’autres symptômes sont moins courants : Irritabilité, État confusionnel, Altération de la conscience (parfois associée à des crises), Troubles anxieux, Dépression, Troubles du sommeil et Complications neurologiques plus graves et plus rares : accidents vasculaires cérébraux, inflammations du cerveau, délire et lésions nerveuses. Le délai entre l’exposition à la COVID-19 et le moment où les symptômes commencent à se manifester est, en moyenne, de 5-6 jours et peut aller de 1 à 14 jours. C’est pourquoi il est conseillé aux personnes qui ont été exposées au virus de rester chez elles, à l’écart des autres, pendant 14 jours, afin d’éviter la propagation du virus, en particulier lorsqu’il est difficile de se faire tester (OMS, 2021).

**Tableau n°1 : Classification des patients COVID 19 selon les décès de sévère te la maladie (De Greef et al.,2020) :**

Classifications des cas	Défnitions
Asymptomatique	RT-PCR positive et aucune plainte
Legers	Symptômes d’infection aiguë des voies respiratoires supérieures (fièvre, fatigue, myalgie, toux, mal de gorge, écoulement nasal, éternuements) ou symptômes digestifs (nausées, vomissements, douleurs abdominales, diarrhée)
Modérés	Pneumonie (fièvre fréquente, toux) sans hypoxémie évidente, avec des lésions au CT-scan
Sévères	Pneumonie (fièvre fréquente, toux) avec hypoxémie évidente (Saturation < 93%), avec des lésions au CT-scan
Critiques	Syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA), peut avoir un choc, une encéphalopathie, une lésion myocardique, une insuffisance cardiaque, un dysfonctionnement de la coagulation et une lésion rénale aiguë

**1.2. Aspect clinique de la malade covid 19 :****1.2.1. Signes cliniques :**

Les formes cliniques de l'infection vont des formes asymptomatiques aux formes graves justifiant une prise en charge en réanimation. L'incubation dans la majorité des cas est de quatre à cinq jours, presque toujours comprise entre deux et onze jours, avec une durée maximale estimée à quatorze jours (**Lauer S.A et al., 2020**).

Les conditions dans lesquelles s'est opérée l'émergence de la pandémie n'ont pas permis de mesurer de manière systématique la proportion des infections asymptomatiques. Dans certaines populations, la mesure de cette proportion a été effectuée, avec des résultats très variables, allant de 18 à 88 % (**Sutton D et al.,2020**). En résumé, tout le monde s'accorde sur l'existence de telles infections, et sur le fait qu'elles sont assez, voire très fréquentes. La plupart des études cliniques publiées ont eu lieu dans un cadre hospitalier, ce qui laisse planer un doute sur la validité de ces observations, pour rendre compte de « toute » la réalité. Dans ce contexte, la plupart des cas de Covid-19 se présentent sous la forme de pneumopathies, avec leur cortège de symptômes aspécifiques : toux, fièvre, dyspnée, rhinorrhée, pharyngite et douleurs thoraciques. Certains signes satellites de nombreux états fébriles ont aussi été rapportés : céphalées, myalgies, frissons et sueurs. Les troubles digestifs à type de nausée, vomissement et surtout diarrhée ont été décrits de manière plus fréquente en milieu gériatrique que dans le reste de la population ; les premières alertes sur ce point en France ont été diffusées par des gériatres intervenant en établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (Ehpad). De manière générale, la population gériatrique présente une sémiologie atypique et dans le cadre de la Covid-19, elle ne déroge pas à la règle. Après 80 ans, les patients présentent moins de fièvre et les patients atteints de trouble cognitifs présentent plus de syndrome confusionnel, avec un tableau respiratoire moins bruyant (**Annweiler C et al.,2020**). La survenue fréquente d'anosmie ou d'hyposomnie , d'agueusie ou d'hypoguesie a interpellé les cliniciens sur l'intérêt de ces signes en pratique courante pour juger de la vraisemblance du diagnostic, mais au bout du compte, la présence ou l'absence de ces signes est souvent prise en défaut quand on les confronte aux résultats des tests virologiques .Des lésions cutanées violacées des extrémités des membres à type d'engelures ou des érythèmes faciaux ont été signalés, particulièrement chez des enfants, adolescents ou jeunes adultes dans des formes peu graves de la maladie. Des lésions urti cariennes ont aussi été rapportées (**Recalcati S.,2020**).

**1.2.2. Facteurs de risque de gravité :**

On estime que les infections asymptomatiques, ou avec des signes cliniques modérés sont de loin les plus fréquentes (80 %). Environ (15 %) des patients ont une forme clinique qui justifie une hospitalisation et chez un peu moins de (5 %) des patients, une forme « critique » (détresse respiratoire, choc, défaillance multi viscérale) survient, qui justifie dans certains cas une admission en réanimation (**Wu Z et McGoogan JM.,2020**). Une partie des patients admis en réanimation doit être intubée pour conserver une chance de guérison. Comme pour la grippe, les formes graves peuvent survenir chez des personnes jeunes et sans co-morbidité, mais ceci est rare. Des facteurs de risque des formes graves ont été identifiés, tels que l'âge et les comorbidités. Alors que l'âge médian des patients hospitalisés se situe entre 50 et 55 ans, 80 % des décès sont observés chez les plus de 65 ans. Les comorbidités sont les pathologies cardiovasculaires et leurs facteurs de risque (obésité, hypertension artérielle, diabète, tabac), les maladies pulmonaires et rénales chroniques, et les néoplasies. L'effet cumulatif des comorbidités sur le risque léthal est très probable, comme l'illustre une série de cas en Italie, dans laquelle le nombre moyen de co-morbidités est compris entre deux et trois (**Onder G et al.,2020**). Profils cliniques évolutifs et complications Dans les formes de la maladie de prise en charge hospitalière, les signes généraux et les signes respiratoires étaient parfois relativement dissociés. Certains patients hospitalisés en raison de leurs facteurs de risque ont eu de la fièvre pendant deux semaines, une fièvre souvent de recrudescence nocturne et bien tolérée cliniquement, indépendamment de tout besoin d'apports en oxygène. Une partie des aggravations de la maladie survient précocement, mais la grande majorité des tableaux de détresse respiratoire sont observés vers J 7-J 10. Les éléments physiopathologiques incriminés pour les aggravations précoces sont la multiplication virale, alors que ce sont les phénomènes inflammatoires (orage cytokinique) contemporains de la sortie des anticorps qui seraient associés aux aggravations tardives (**Ye Q et al., 2020**).

Les détresses respiratoires (SDRA) représentent certes la majorité des complications, mais celles-ci sont multiples. Les plus fréquentes sont constituées par les arythmies, les cardiomyopathies, des tableaux de sepsis indépendamment de toute infection bactérienne.

La maladie thromboembolique est aussi une complication particulièrement fréquente, justifiant des recommandations spécifiques d'anti coagulation préventive (**Edouard D et JeanF., 2020**). Des thromboses veineuses profondes, dont des thromboses sur cathéter, et surtout des embolies pulmonaires ont été rapportées. En réanimation, les embolies pulmonaires

se sont révélées plus fréquentes dans les SDRA de la Covid-19 que dans les SDRA d'autres sétiologies. L'électrocardiogramme était donc un examen incontournable à l'admission en secteur Covid-19. Les complications neurologiques, à type de myélite para-infectieuse, de syndrome de Guillain-Barré, d'encéphalites aiguës et d'encéphalopathies ont été décrites (**Traore A et al.,2020**). Les insuffisances rénales aiguës, nous l'avons vu, sont associées à la gravité puisqu'elles informent sur le pronostic global du patient. Un rôle spécifique du virus, qui serait responsable d'une néphropathie de la Covid-19, reste débattu dans la mesure où la plupart des atteintes rénales constatées dans ce contexte sont des lésions tubulaires observables dans le cadre d'un processus commun aux défaillances multi-organiques, dont celles liées aux formes graves de multiples maladies infectieuses (**Kissling S et Pruijm M.,2020**).

### **1.2.3.Éléments paracliniques (à l'exclusion du diagnostic virologique) :**

Au plan biologique, l'anomalie la plus courante de l'hémogramme est constituée par une lymphopénie (**Wang D et al.,2020**). Un syndrome inflammatoire d'intensité très variable lui est associé, indépendamment de la survenue d'une surinfection bactérienne (globalement rare). Dans le profil biochimique, une élévation modérée des alanines aminotransférase/aspartates aminotransférase (Alat/Asat), des lactates déshydrogénase (LDH) et des créatine kinase (CPK) est habituelle. Des anomalies des paramètres du bilan de coagulation ont été observées, dont la traduction clinique est un risque accru d'événements thrombo-emboliques : élévation du fibrinogène et des D-Dimères. Les éléments biologiques associés à la gravité de la maladie sont la lymphopénie et l'intensité des éléments suivants : marqueurs de l'inflammation, et marqueurs d'hypercoagulabilité, cytolysé hépatique. Cette maladie très contagieuse justifie des procédures de soins très rigoureuses et ceci a imposé la création de circuits de prise en charge dédiés. Or, les éléments cliniques ou biologiques que nous venons d'énoncer sont à la fois fréquents en médecine et aspécifiques. Pour les patients admis en hospitalisation, il était donc crucial de distinguer, le plus possible et le plus rapidement possible, les cas pour lesquels le diagnostic pouvait être retenu, des cas où le diagnostic pouvait être exclu, à partir de données paracliniques. La tomodensitométrie thoracique a aussi joué un rôle majeur dans la prise en charge initiale des patients. La grande majorité des patients admis aux urgences et suspects de Covid-19 n'avaient pas encore été testés lorsqu'ils arrivaient à l'hôpital, le plus souvent plusieurs jours (qui, si on avait disposé de tests, auraient laissé le temps d'établir le diagnostic en ambulatoire) après le début de leur maladie. Dans ces conditions, les services d'urgence ont été mis devant le fait accompli de trier systématiquement les patients à l'admission pour les orienter selon plusieurs filières de soins:

1. Celle des diagnostics retenus (sur la base d'une certitude ou d'une très forte probabilité) admis dans des « secteurs Covid-19 »,
2. Celle des diagnostics indéterminés et compatibles, admis dans des « secteurs tampons »,
3. Celle de cas « non Covid-19 ».

Les outils virologiques ont bien évidemment constitué l'essentiel des outils para cliniques d'orientation. Compte-tenu du tropisme pulmonaire de la maladie et dans la mesure où des anomalies radiologiques caractéristiques ont été identifiées rapidement dans cette pathologie, la tomodensitométrie (TDM) thoracique a aussi joué un rôle majeur dans la prise en charge initiale des patients. La TDM thoracique permet non seulement une évaluation de l'importance de l'atteinte pulmonaire, mais elle a aussi une bonne valeur prédictive négative pour le diagnostic de la Covid-19 dans le contexte précédemment décrit. Il est important de garder à l'esprit que la sensibilité de la TDM thoracique est globalement faible les trois premiers jours de la maladie .A contrario, lorsqu'une TDM thoracique se révèle caractéristique de la Covid-19 dans un contexte clinique et/ou épidémiologique (contage avec un cas avéré), le diagnostic de la Covid-19 est retenu en première intention quel que soit le résultat du test virologique (dont les résultats étaient obtenus dans la majorité des cas après ceux de la TDM thoracique).Les signes radiologiques caractéristiques de la Covid-19 sont les suivants (**Touati J et al., 2020**) des opacités en verre dépoli, non systématisées, multifocales, bilatérales, et asymétriques, de localisation sous pleurale à prédominance basale et postérieure . L'évolution des images en verre dépoli se fait vers un aspect de crazy paving : apparition secondaire de réticulations intra lobulaires (dont le pic se situe vers le dixième jour) et de condensations linéaires. Dans les formes graves, la proportion de condensation pulmonaire versus verre dépoli est plus élevée. Dans le contexte pandémique, le risque de porter à tort un diagnostic de la Covid-19 étant élevé, les recommandations ont mis en exergue les points suivants : la présence de micronodules bronchiolites , d'adénopathies médiastinales et d'épanchements pleuraux doit faire considérer un autre diagnostic. Curieusement, il n'y pas de parallélisme strict entre la survenue de symptômes et celle des signes radio-logiques, puisqu'il a été constaté la présence de signes radiologiques caractéristiques de la Covid-19 chez des patients ayant une infection asymptomatique (**Hu Z et al.,2020**) .

### 2. La sérologie :

De nombreux tests permettent la détection des anticorps produits au cours de l'infection par le SARS-Cov-2. Certains de ces tests sont quantitatifs et automatisés comme les tests Elisa, d'autres se révèlent qualitatifs et de diagnostic rapide tels que les tests immunochromatographiques (ICT) (Hediye-BAG D, 2021).

Les tests Elisa correspondent à des tests classiques utilisant comme antigènes cibles la protéine N du Sars-Cov-2 ou le domaine extracellulaire de la protéine de surface S. La spécificité s'avère supérieure à 98% et la sensibilité supérieure à 90% (Bertholom C., 2020 et Suzie D., 2020). Concernant les anticorps, les IgM apparaissent 5 jours après le début de l'apparition des symptômes avec un taux de séroconversion de 90% à 100% de J15 à J21. Pour les IgG, leur durée dépend de l'intensité et de la sévérité de la maladie, la détection s'effectue de J5 et J14. Les tests sérologiques se révèlent utiles chez les patients n'ayant pas bénéficié d'un test PCR, comme diagnostic de rattrapage lors de l'aggravation de l'état de ces patients, ou si la PCR se révèle négative. Ils possèdent surtout une place dans la surveillance épidémiologique et dans l'identification des personnes en contact antérieurement avec le virus, notamment les personnes consultant 14 jours à partir du début des symptômes (Hediye-BAG D, 2021).

### 2.1. La période d'incubation :

Cela correspond à l'intervalle entre la date d'un premier contact potentiel avec un patient suspecté ou confirmé de COVID-19 et la date d'apparition des signes cliniques. La période d'incubation varie de deux à quatorze jours (la médiane se situant à cinq jours) selon l'OMS. La phase contagieuse s'élève à 8 jours en moyenne et commence environ 2 jours avant le début des symptômes. Cette notion s'avère importante pour déterminer la durée d'isolement afin de contrôler la propagation de l'infection. (Edouard D et Jean F., 2020).

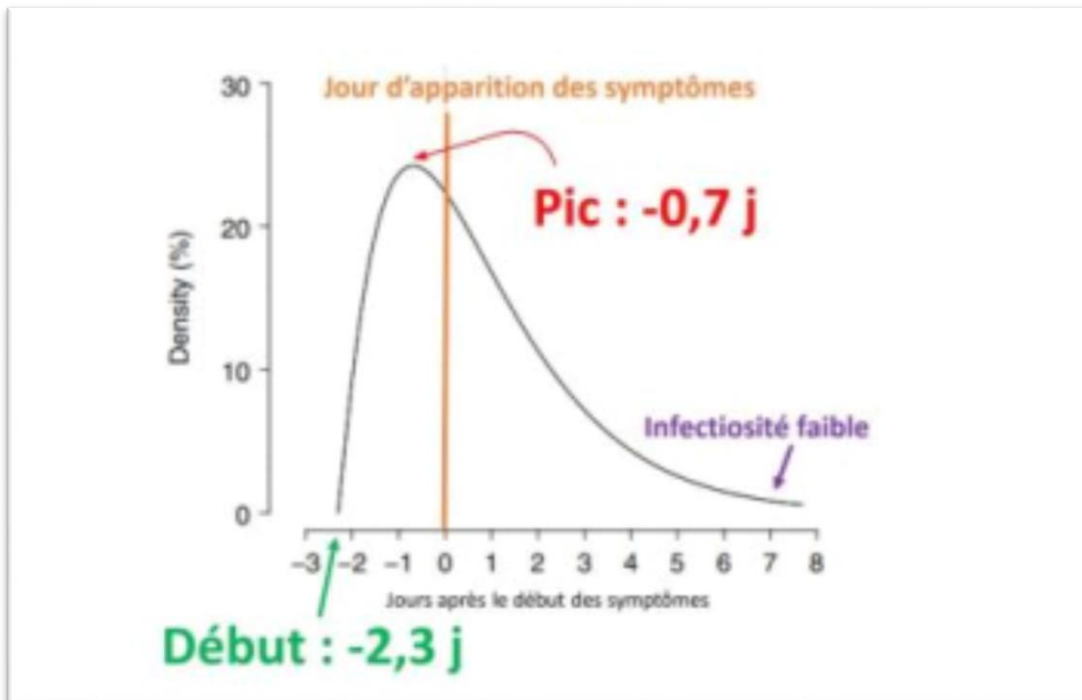


Figure n°6 : Infectiosité du SARS-CoV-2(Edouard D et jean F., 2020).

### 3. Les tests d'identification :

#### 3.1. Test nasopharyngé RT- PCR :

Suite à la publication de la séquence complète du génome du SARS-Cov-2 par les virologues chinois le 12 janvier 2020 (OMS ,2020), des tests moléculaires ont été développés afin de permettre la détection de l'ARN viral SARS-Cov-2. Ces techniques se fondent principalement sur le principe de RT-PCR quantitative (Hediye-BAG D,2021).

Le diagnostic repose sur la détection qualitative à partir d'un écouvillonnage nasal de l'ARN viral. Différentes cibles peuvent ainsi être visées pour la détection de l'ARN viral par RT-PCR (RdRP, E, N, S), et à cet égard, il est recommandé que les réactifs utilisent au moins deux cibles. Plusieurs kits de détection se trouvent actuellement disponibles dont la spécificité se révèle excellente (100 %) et la sensibilité satisfaisante (80-90 %) (Bertholom C.,2020). La performance des kits dépend de la qualité du prélèvement, il importe donc que le personnel soit entraîné. Il convient de réaliser le prélèvement nasopharyngé au début des symptômes, lorsque l'excrétion virale s'avère la plus importante. Pour une meilleure sensibilité, les expectorations, les aspirations endotrachéales et le lavage bronchoalvéolaire peuvent être également réalisés. Par ailleurs, on retrouve également de l'ARN viral dans des échantillons fécaux et sanguins. La charge virale du SARS-CoV-2 dans les prélèvements nasopharyngés et les voies aériennes



supérieures se révèle présente 1 à 2 jours avant le début des signes cliniques et peut persister jusqu'à 4 semaines dans les formes sévères du COVID-19 (Wölfel R et al.,2020).

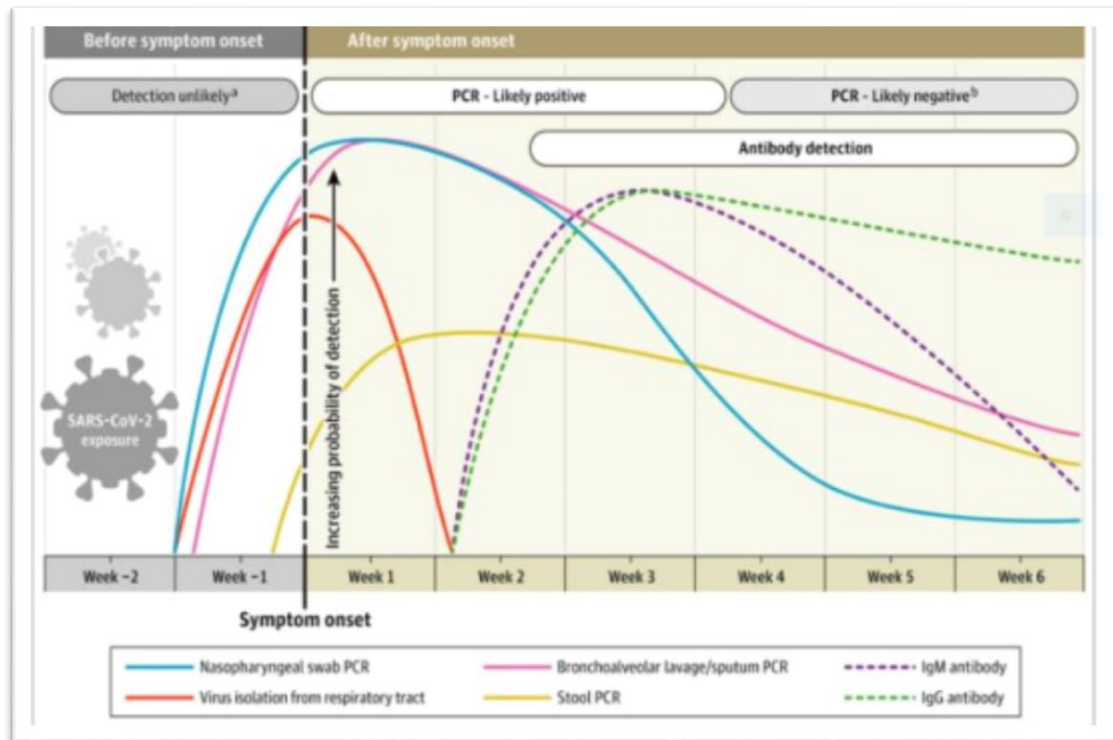
Il apparaît important de préciser que la RT-PCR détecte la présence du génome viral, mais n'indique pas pour autant si le virus est vivant. À ce jour, la RT-PCR sur prélèvement nasopharyngé reste la méthode la plus fiable. Les indications de diagnostic par RT-PCR énoncées par le Haut Conseil de santé publique s'avèrent restreintes au début de l'épidémie en raison de la pénurie des équipements et de réactifs de PCR. Seuls les patients hospitalisés, les femmes enceintes et le personnel de santé présentant les symptômes de la COVID-19 pouvaient alors se faire dépister. À la suite du déconfinement, le 11 mai 2020, les indications des tests RT-PCR s'étendent à toutes les personnes présentant des symptômes évocateurs du COVID-19. Le but consiste à dépister le maximum de personnes, comme le préconise l'OMS en début d'épidémie, afin de limiter la chaîne de contamination. Depuis le 25 juillet 2020, toute personne peut se présenter à un laboratoire d'analyses médicales pour demander la réalisation d'un test, sans prescription médicale préalable (Hediye-BAG D,2021).

### **3.2. Test salivaire : RT-LAMP :**

Les tests RT-LAMP sont réalisés sur prélèvement salivaire. C'est une technique d'amplification iso thermique sans extraction ARN. Ils sont moins invasifs et donnent un résultat rapidement. La HAS a rendu un avis favorable le 18 septembre 2020 à l'utilisation de ces tests dans les cas où les prélèvements naso pharyngés n'étaient pas possibles (HAS,2021).

### **3.3. Les tests antigéniques :**

Les tests antigéniques apparaissent couramment utilisés dans le diagnostic des pathologies respiratoires. Ces tests consistent en des dosages immunologiques qui détectent la présence d'un antigène viral spécifique. Le préleveur effectue un prélèvement naso pharyngé et le place directement sur le tampon d'extraction. La plupart des tests proposent un résultat en 15 minutes environ. Les tests d'antigènes se révèlent peu coûteux et peuvent être réalisés chez le pharmacien ou chez un médecin. Il importe de les effectuer entre J1 et J4 à partir du début des symptômes. (Hediye-BAG D,2021).



**Figure n°7 :** Cinétique des marqueurs virologiques au cours de l’infection au Sars-Cov-2 (Edouard D et Jean F., 2020).

**3.4. Les tests sérologiques d’orientation rapide (TROD) :**

Il s’agit de tests d’orientation diagnostique, ils ne posent pas le diagnostic de la COVID-19. Ils sont indiqués dans le cadre d’enquêtes épidémiologiques ou chez des patients ayant des difficultés d’accès à un laboratoire de biologie médicale ou dans le cadre d’orientation diagnostique de rattrapage chez les soignants symptomatiques sans signes de gravité. Ils peuvent être utilisés à partir du 7<sup>e</sup> jour après le début des symptômes et de façon optimale au 14<sup>e</sup> jour. En présence de résultats positifs, il convient de réaliser un test sérologique de confirmation en laboratoire (HAS, 2020).

**Tableau n°2 :** Comparatif des tests (Hediye-BAG D, 2021).

Examen	Échantillon	Délai et fenêtre de détection	Sensibilité	Spécificité	Délai de réponse
RT-PCR	Sécrétions nasopharyngées (ou oro-pharyngée)	Positif 2 jours avant le début des symptômes et 7 à 10 jours après	Gold Standard 80-90 %	100 %	24 heures
RT-LAMP	Sécrétions salivaires		84 %	92 %	40 minutes
Tests Antigéniques	Sécrétions nasopharyngées	4 premiers jours après le début des symptômes	66-74 % Sensibilité baisse au-delà de 4 jours	93-99 %	30 minutes
Test sérologique en laboratoire	Prise de sang, sérum	15 jours après les symptômes	Dépendante du délai de réalisation <b>90 %</b> à partir de J7, <b>100 %</b> à partir J14	>98 %	4-6 heures
Test sérologique rapide d'orientation diagnostique (TROD)	Sang total au bout du doigt	15 jours après les symptômes	90-95 %	98 %	20 minutes <b>Disponible en ville</b>

# **Chapitre III**

## **Traitement et**

### **Prévention**

### 1. Traitement et Prévention :

La pandémie de COVID-19 qui a frappé le monde bat aujourd'hui son plein. Parallèlement aux actions menées par l'OMS et ses partenaires pour riposter à cette pandémie (suivi de la pandémie, conseils sur les interventions essentielles, distribution de fournitures médicales vitales à ceux qui en ont besoin), une course aux vaccins a été engagée (Milibari A, 2020).

La première étape du traitement des personnes suspectées d'avoir COVID-19 est un isolement adéquat afin d'éviter la propagation à d'autres contacts. En outre, les personnes suspectées d'avoir la maladie doivent être invitées à porter un masque chirurgical et à répéter l'hygiène de la toux (OMS, 2019). Les vaccins sont une nouvelle arme essentielle dans la lutte contre la COVID-19 et il est extrêmement encourageant de constater que beaucoup d'entre eux s'avèrent efficaces et passent en phase de mise au point. Travaillant le plus vite possible, des scientifiques du monde entier collaborent et innovent pour fournir des tests de dépistage, des traitements et des vaccins qui, ensemble, permettront de sauver des vies et de mettre fin à la pandémie (Gynecologic C, 2020).

### 2. Les vaccins

#### 2.1. Composition d'un vaccin :

Le composant principal d'un vaccin est bien sûr le ou les antigènes sous différentes formes en fonction du type de vaccin. Mais au-delà de cet ingrédient indispensable, on retrouve différents composés et ceci selon les différents types de vaccins :

- Un **diluant** : eau ou eau saline, utilisée pour diluer le vaccin jusqu'à la bonne concentration d'administration ;
- Des **stabilisateurs** : sucres (lactose ou saccharose) ou acides aminés (glycine...) ou albumine ou gélatine. Ils permettent de maintenir l'efficacité du vaccin au cours du temps et empêchent les composants du vaccin d'adhérer aux parois du flacon ou de l'aiguille ;
- **Des conservateurs** : thiomersal ou phénoxyéthanol ou phénol. Utilisés pour éviter les contaminations du vaccin par des agents bactériens ou fongiques, ils ne sont pas présents dans tous les vaccins. Seuls les vaccins multi-doses (comme ceux utilisés pour la pandémie grippale de 2009) en contiennent à l'état de traces. Ce type de vaccin est très peu utilisé en France car les enfants ne sont plus vaccinés à l'école de manière collective aujourd'hui.

- **D'autres substances** sont retrouvées sous formes de traces, car utilisées pendant le processus de fabrication du vaccin (et dépendent donc des procédés de fabrication de chaque type de vaccin) :

- Des antibiotiques : néomycine, gentamicine (lors de la culture de virus sur cellules),
- Des traces de milieux de culture (lors de la culture du pathogène),
- Des agents d'inactivation de l'agent pathogène ou de la toxine : formaldéhyde ou glutaraldéhyde,
- Des traces de protéines d'œufs (par exemple dans le vaccin grippal produit par culture sur œufs de poule embryonnés),
- Des adjuvants, utilisés pour augmenter l'efficacité du vaccin (augmenter la réponse immunitaire au vaccin) (**Caudal H,2017**).

Les adjuvants les plus utilisés compte tenu de nombreuses données en faveur de leur sécurité sont les sels d'aluminium. Et depuis les années 90, de nouveaux adjuvants ont vu le jour : le scalène (précurseur des stéroïdes), des dérivés bactériens ou encore des vésicules artificielles composées de lipides et incluant ou non des protéines virales (liposomes et virosomes). Ils sont développés pour les situations où l'aluminium n'est pas efficace (par exemple dans le vaccin contre la grippe) ou pour augmenter encore l'effet de l'aluminium (par exemple dans l'un des vaccins anti-HPV) (**V&V., 2022**).

### 2.2. Classification des vaccins :

Il existe différentes classifications qui varient en fonction du germe pathogène ou des procédés de fabrication. La littérature n'a pas précisé une classification de référence du fait du développement continu dans le monde des vaccins. Ces progrès ciblent non seulement la composition, mais aussi la production et le mode d'administration. Ainsi, la vaccinologie moderne intègre de nouvelles connaissances en immunologie fondamentale et en microbiologie, dans les récentes technologies. (**Khaoula S.,2010**).

#### 2.2.1. Les vaccins vivants atténués

Les vaccins vivants atténués contiennent des agents pathogènes qui ont été affaiblis, modifiés ou sélectionnés pour être moins virulents que leurs homologues de type sauvage. Sous

leur forme altérée ,ils sont incapables de provoquer la maladie dans la cellule hôte (**Julie L.,2011**).

### **2.2.2. Les vaccins inactivés ou tués :**

Ils contiennent des agents infectieux qui ont été tués grâce à un produit chimique ou par la chaleur. Ils sont donc inoffensifs, mais restent capables de susciter une réponse du système immunitaire. Ils ont l'avantage d'éliminer tout risque lié au caractère infectieux. Ces préparations sont inertes et ne peuvent provoquer que de faibles réactions d'intolérance ou d'hypersensibilité, ou encore une réaction fébrile temporaire. C'est la raison pour laquelle tous les vaccins inactivés peuvent être utilisés chez la femme enceinte et les personnes immunodéprimées (**Julie L.,2011**).

### **2.2.3. Les sous-unités vaccinales :**

Les vaccins sous-unitaires contiennent un antigène purifié au lieu d'utiliser des microorganismes entiers. Les antigènes purifiés peuvent être des anatoxines, des fragments subcellulaires ou des molécules de surface, qui sont transportés par différents transporteurs (**Julie L .,2011**).

### **2.3. But de la vaccination :**

La vaccination a deux buts principaux stopper la circulation de l'agent pathogène et prévenir la maladie en préparant le corps de la personne vaccinée à une réponse immunitaire plus forte et plus rapide en cas d'infection. En effet, les vaccins antiviraux vont prévenir ou modifier la sévérité de la maladie chez l'individu et interrompe ou réduit la transmission du virus à d'autres personnes sensibles. (**Arvin et greenberg., 2005**).

**Chapitre IV**  
**Description Moléculaire**  
**Du Virus Sars Cov 2**



## Chapitre IV : Description Moléculaire Du Virus Sarse Cov 2

### 1. Structure protéines du virus :

Les coronavirus prennent la forme de virus enveloppés, plutôt sphériques et mesurent 80 à 220 nanomètres de diamètre. Le Sars-CoV-2 constitue un virus à ARN monocaténaire non segmenté de polarité positive. Sa taille s'élevant à près de 30kb, le classifie le plus grand des génomes des virus à ARN. Il comporte un grand transcrite se traduisant en 16 protéines coupées par des protéases. Ces protéines réalisent la structure du virus et permettent la réplication virale. Outre ce grand transcrite, le génome comporte également quatre gènes de l'extérieur vers l'intérieur la glycoprotéine Spike (S), la protéine d'enveloppe (E), la protéine de matrice (M) et la nucléocapside (N). L'enveloppe virale porte à sa surface de hautes projections formées de protéines de surface S associées en trimère donnant un aspect en couronne (d'où le préfixe latin « corona ») à la particule virale (ICTV,2020).

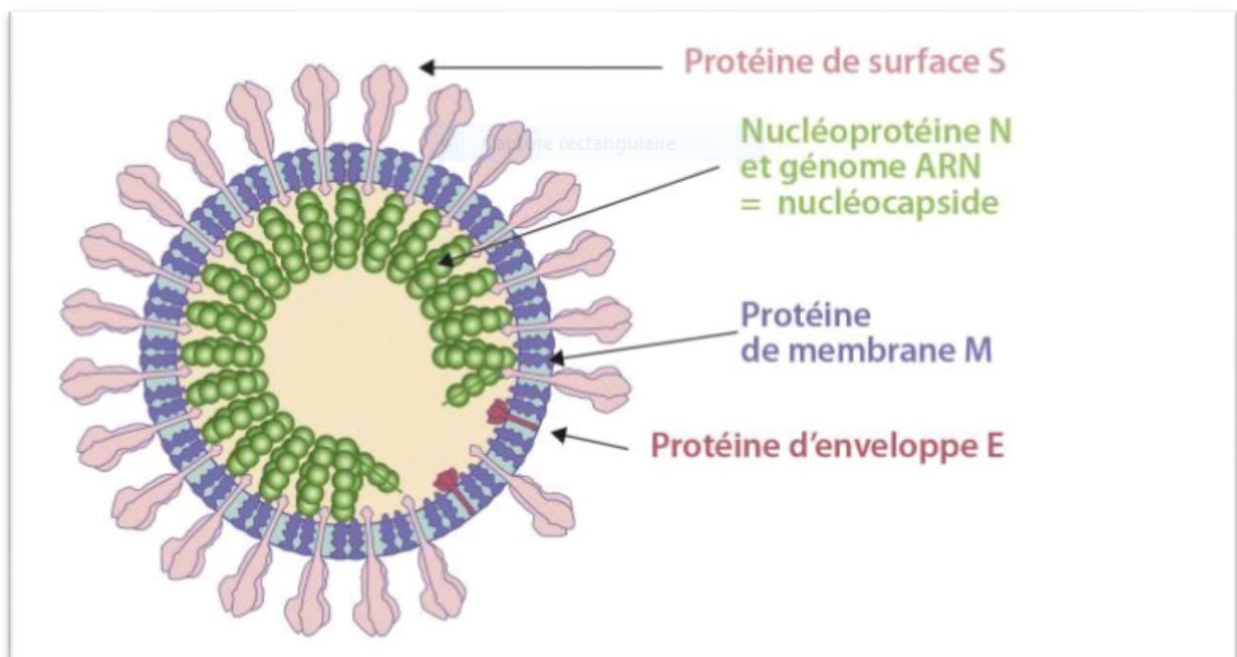


Figure n°8 : Structure d'un coronavirus (Astrid V et Meriadeg Ar., 2020).

### 2. Les protéines structurales :

#### 2.1. La protéine S :

La protéine S du coronavirus est une grande protéine transmembranaire virale multifonctionnelle de classe I. La taille de cette abondante protéine S varie de 1160 acides aminés (IBV, virus de la

## **Chapitre IV : Description Moléculaire Du Virus Sarse Cov 2**

---

bronchite infectieuse, chez la volaille) à 1400 acides aminés (FCoV, coronavirus félin) (**Belouzard S et al., 2012**). Elle se trouve dans un trimère sur la surface

virion, donnant au virion un aspect corona ou couronne. Sur le plan fonctionnel, elle est nécessaire pour l'entrée des particules de virion infectieux dans la cellule par interaction avec divers récepteurs cellulaires hôtes (**Beniac DR et al., 2006**).

### **2.2. La Protéine M :**

La protéine M est la protéine virale la plus abondante présente dans la particule du virion, donnant une forme définie à l'enveloppe virale (**Neuman BW et al., 2011**). Elle se lie à la nucléocapside et agit comme un organisateur central de l'assemblage du coronavirus (**Nal B et al., 2005**). Les protéines M du coronavirus ont des teneurs en acides aminés très diverses mais conservent une similitude structurelle globale au sein de différents genres (**Arndt AL., 2010**). La protéine M a trois domaines transmembranaires, flanqués d'une courte terminaison amino à l'extérieur du virion et d'une longue terminaison carboxyle à l'intérieur du virion (Arndt., 2010). Dans l'ensemble, l'échafaudage viral est maintenu par l'interaction MM. Il est à noter que la protéine M du SARS-CoV-2 n'a pas de substitution d'acide aminé par rapport à celle du SARS-CoV (**Wu Fet al., 2020 ; Dhama Ket al., 2020**).

### **2.3. La Protéine E :**

La protéine du coronavirus E est la plus énigmatique et la plus petite des principales protéines structurelles (**Schoeman et Fielding., 2019**). Elle joue un rôle multifonctionnel dans la pathogenèse, l'assemblage et la libération du virus (**Nieto et al., 2014**). C'est un petit polypeptide membranaire intégral qui agit comme une viroporine (canal ionique) (**Pervushin et al., 2009**). L'inactivation ou l'absence de cette protéine est liée à la virulence altérée des coronavirus due à des changements de morphologie et de tropisme (**Dediego et al., 2007**). La protéine E se compose de trois domaines, à savoir un court amino-terminal hydrophile, un grand domaine transmembranaire hydrophobe et un domaine C-terminal (**Schoeman et Fielding., 2019**) (**Dhama K et al., 2020**).

### **2.4. La protéine N :**

Coronavirus est polyvalente. Parmi plusieurs fonctions, elle joue un rôle dans la formation de complexes avec le génome viral, facilite l'interaction de la protéine M nécessaire

## **Chapitre IV : Description Moléculaire Du Virus Sarse Cov 2**

lors de l'assemblage du virion et améliore l'efficacité de la transcription du virus (**Chang et al., 2006, Sheikh A et al., 2020**). Elle contient trois domaines hautement conservés et distincts, à savoir, un NTD, un domaine de liaison à l'ARN ou une région de liaison (LKR) et un CTD (**McBride R et al., 2014**). Le NTD se lie à l'extrémité 3' du génome viral, peut-être via des interactions électrostatiques, et est fortement divergé en longueur et en séquence (**Fan Hetal., 2005**). Le LKR chargé est riche en sérine et en arginine et est également connu sous le nom de domaine SR (sérine et arginine) (**Hurst KR et al., 2009**). Le LKR est capable d'interagir directement avec interaction ARN in vitro et est responsable de la signalisation cellulaire (**Stohlman S.A et al., 1988 ; You J et al., 2005**). Il module également la réponse antivirale de l'hôte en agissant comme antagoniste des interférons (IFN) et ARN (**Cui L et al., 2015**). Par rapport à celle du SARS-CoV, la protéine N du SARS-CoV-2 possède cinq mutations d'acides aminés, dont deux sont dans la région intrinsèquement dispersée (IDR ; positions 25 et 26), chacune dans le NTD (position 103), LKR (position 217) et CTD (position 334) (**Wu F et al., 2020**) (**Dhama et al., 2020**).

### **3. Protéines non structurales :**

En plus des protéines structurales formant la capsid, le génome viral code pour de nombreuses protéines non structurales (NSP) qui remplissent de nombreux rôles dans les processus de réplication et d'assemblage de virus. Ces protéines participent à la pathogenèse virale en modulant précocement la régulation de la transcription, l'activité hélicase, l'immunomodulation, la transcription, la génétique et contre la réponse antivirale (**Zhou P et al., 2020**).

### **4. Génome de virus sarc-cov 2 :**

Le génome d'une longueur d'environ 29,8 à 29,9 kb (kilobases) comporte 10 cadres de lecture ouverts (open reading frames, ORF) et code environ 30 protéines (**Khailany RA et al., 2020**). Dans sa partie 5', se trouve une séquence non codante puis l'ORF1ab codant une polyprotéine non-structurale (21 290 nucléotides), scindée en 16 protéines non structurales, dont l'ARN polymérase ARN dépendante, les gènes codant les protéines de structure S (S1 et S2) (1273 aa), E, M puis N. L'ORF1a code les protéines 1 à 11 et l'ORF1b celles de 12 à 16 (**Jungreis I et al., 2020 ; Chen WH et al., 2020**). Six gènes codant des protéines accessoires sont présents entre les gènes des protéines de structure (**Khailany et al., 2020**). Le principal récepteur du SARS-CoV-2 est l'ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2) qui est très largement exprimé à la surface de différentes cellules de l'organisme humain. Il se trouve en effet à la surface des cellules de l'épithélium du nez, de la trachée, des bronches, des glandes séreuses

## Chapitre IV : Description Moléculaire Du Virus Sarse Cov 2

bronchiques, des alvéoles pulmonaires, des monocytes et macrophages alvéolaires, des cellules endothéliales et des myocytes des vaisseaux sanguins, des entérocytes de l'intestin grêle, des cellules épithéliales des tubules rénaux et des neurones (Jungreis.let al,2020) .

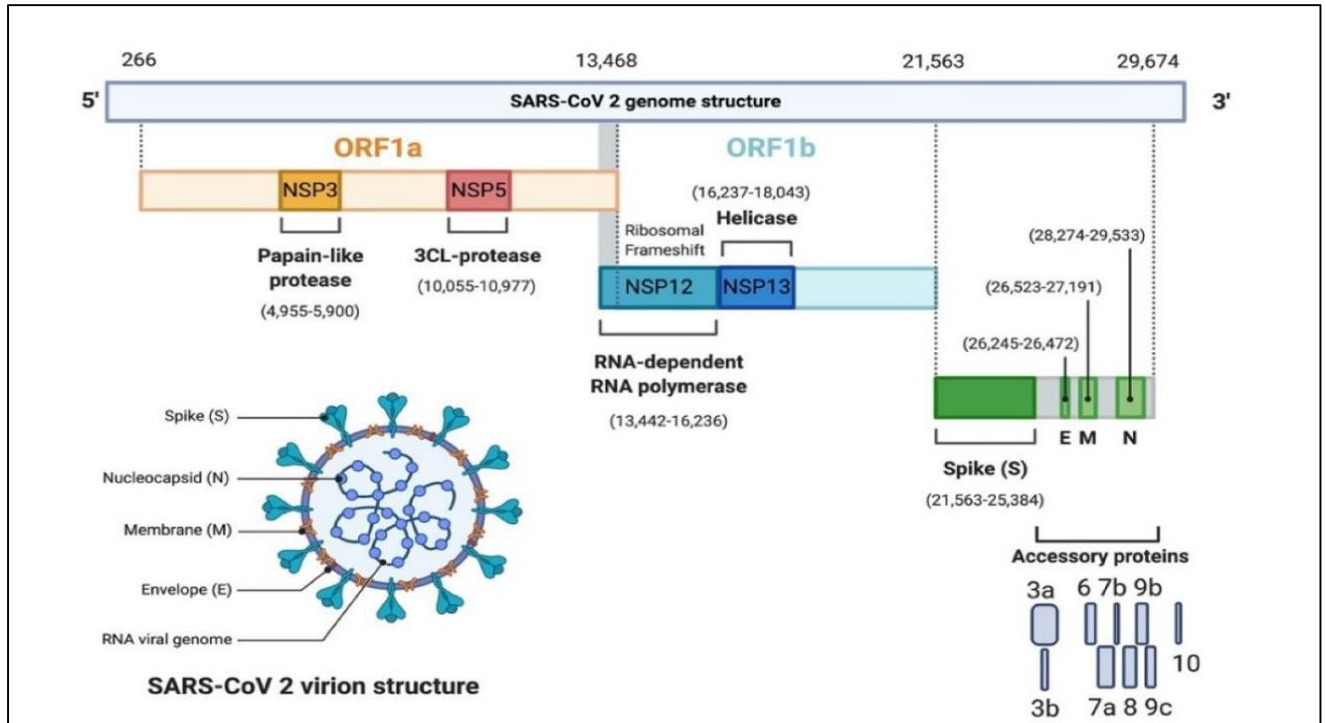


Figure n°9 :Structure schématisée du génome du SARS-COV-2(Jungreislet al.,2020).

### 5.Origine moléculaire de SARC-COV-2:

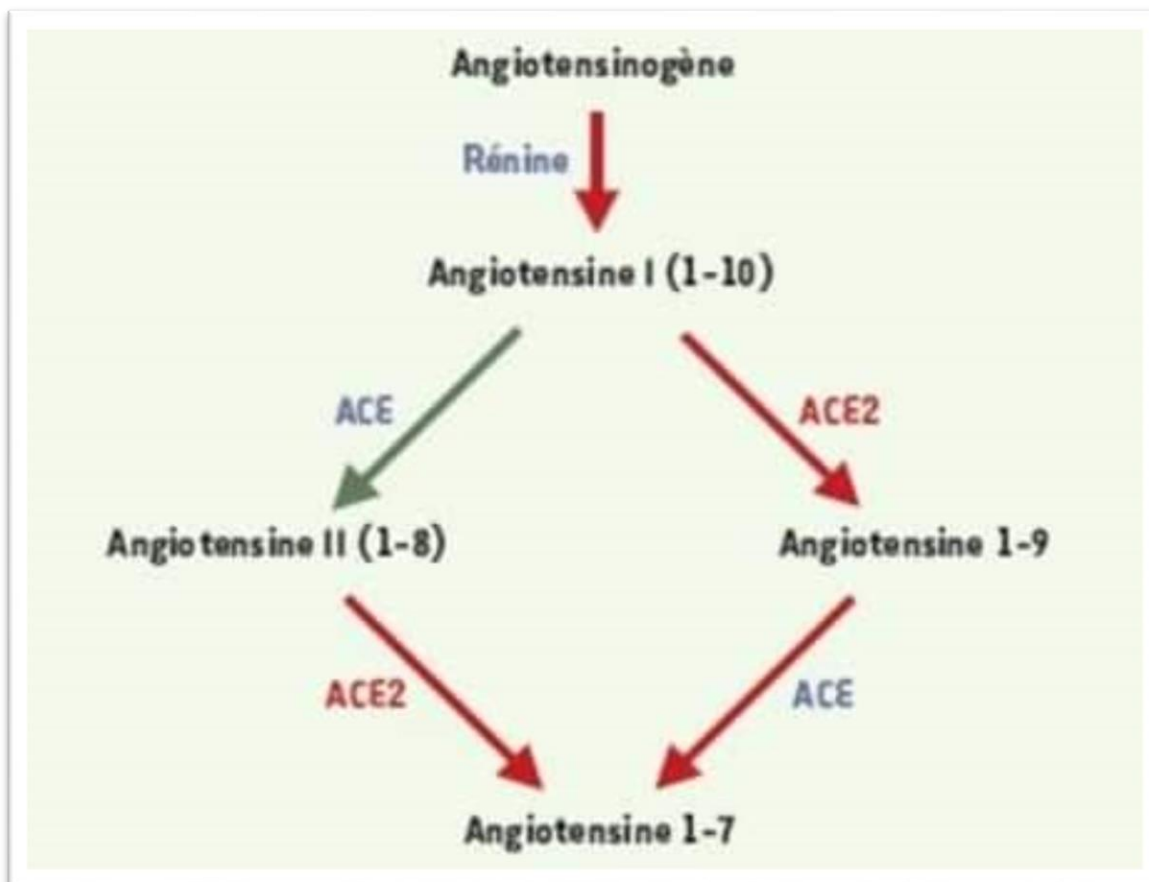
Les analyses bioinformatique sont montré que le SRAS-COV-2 a des caractéristiques typique de la famille des coronavirus .il appartient à la lignée des bêta coronavirus 2B (lai et al., 2020). Au début de l'épidémie de pneumonie à Wuhan (Chine), les scientifique ont obtenue les premières séquences génomiques complètes de cinq patient infectés par le SARS –COV -2 ces séquences partagent une identité de séquence de 79.5% avec le SRAS-COV.de toute évidence, le SRAS-COV-2 est différent du SRAS-COV. Il est considéré comme un nouveubétacoronavirus infectant l'homme (Zhou P et al., 2020) l'alignement la séquence complète du génome du SRAS-COV-2 et d'autre génomes disponible de bêta coronavirus ont montré que le SRAS-COV-2 est très proche de la souche de coronavirus de type SARS de chauve-souris BatCov RaTG13 avec une identité de 96% ces étude suggèrent que le SRAS-COV-2 pourrait être d'origine de chauve –souris et que le SRAS-COV-2 pourrait avoir naturellement évolué à partir du coronavirus de chauve-souris RaTG13 (Zhang et al., 2020 ; Zhou et al., 2020) .

# **Chapitre V**

## **Systeme rénine angiotensine et Covid19**

## I. Système rénine angiotensine et Covid19 :

La rénine clive l'angiotensinogène en angiotensine I. L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE), transforme l'angiotensine I en angiotensine II, peptide actif agissant sur les récepteurs AT1 (effet vasoconstricteur et stimulateur de la production d'aldostérone par la surrénale) (Mercadier J-J., 2003)(Figure N°10).



**Figure N° 10 :** Système rénine-angiotensine (Mercadier J-J., 2003).

L'existence d'une seconde enzyme de conversion de l'angiotensine appelée ACE2 a été révélée dans les années 2000 (Ferrario CM et al., 2005). ACE2 transforme l'angiotensine I en angiotensine 1-9, et transforme l'angiotensine II en angiotensine 1-7, qui a une activité vasodilatatrice. La famille des Sartans a pour effet d'inhiber le SRA en antagonisant l'action de l'angiotensine II par le blocage de son récepteur AT1. Il a été mis en évidence, chez la souris puis chez l'homme, qu'une administration de bloqueurs du SRA augmentait l'expression et l'activité de l'ACE2. (Ferrario CM et al., 2005 ; uruhashi M et al., 2015).

**I. 1.1. ACE2 et COVID-19 :**

L'enzyme de conversion de l'angiotensine II (ACE2) est une protéine (carboxypeptidase) homologue de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (appelée historiquement ACE, qu'on devrait maintenant renommer ACE1) décrit pour la première fois en 2000 (**Donoghue M et al., 2000 ; Tipnis SR et al.,2000**). L'ACE2 régule négativement le système rénine-angiotensine et agit comme une protéine de clairance de l'angiotensine II (aussi appelée angiotensine (**Zhou F et al., 2020 ; Ocaranza MP et al.,2006**), peptide actif, avec effet vasoconstricteur, pro-fibrosant, pro-inflammatoire et stimulant la sécrétion d'aldostérone via une fixation sur le récepteur AT1) en la convertissant en angiotensine [1-7].

En effet, plusieurs travaux expérimentaux sur l'animal ont montré que l'angiotensine [1-7], via la fixation sur son récepteur Mas, entrainerait une vasodilatation et posséderait des propriétés anti-fibrosante et anti-inflammatoire(**Choi HS et al.,2020**). La clairance de l'angiotensine II est également assurée par une amino peptidase qui convertit l'angiotensine II en angiotensine III qui est à l'origine d'une vasodilatation, d'une augmentation de la natriurèse et de la bradykinine via une fixation préférentielle sur les récepteurs AT2 en lien avec une affinité 30 fois plus élevée pour les récepteurs AT2 en comparaison aux récepteurs AT1(**Karnik SS et al.,2015 ; Santos RAS et al.,2018**).L'ACE2 convertit également l'angiotensine I (appelée également angiotensine [1-10]) en angiotensine [1-9] dont le rôle est inconnu et qui sera elle-même convertie en angiotensine [1-7] par l'ACE1. Le SRAA peut ainsi être divisé en un système « activateur » représenté par la voie classique et historique angiotensine II/ACE1/AT1R/aldostérone et par un système « inhibiteur » représenté par la voie angiotensine [1-7]/ACE2/MasR, cette dernière voie étant en mesure à la fois de dégrader l'angiotensine II et à la fois de s'opposer à ses effets. La voie angiotensine [1-7]/ACE2/MasR, contrairement à la voie angiotensine II/ACE1/AT1R/aldostérone, n'a été que peu explorée d'un point de vue pharmacologique mais quelques études animales ont montré des effets bénéfiques sur le système cardiovasculaire lors d'une activation de cette voie, potentiellement via une augmentation du GMPc [7–11].Il faut également noter qu'ACE2 a été décrit comme interagissant avec le récepteur à l'angiotensine de type 1 (AT1R, cible des antagonistes du récepteurs à l'angiotensine II [ARAI]) et que les ARAII, en s'opposant aux effets de

L'angiotensine II médiés par les récepteurs AT1 entrainant ainsi une stimulation de la synthèse d'angiotensine II, seraient capables d'induire en réponse à cette augmentation d'angiotensine II une augmentation de l'expression d'ACE2 (**Deshotels MR et al.,2014**)ACE2

semble être exprimée par les cellules de divers organes incluant, entre autres, le coeur, les reins, les vaisseaux, le tractus digestif, les testicules, la sphère ORL et les poumons (Kuba K et al.,2005 ; Xu H et al.,2020).

Pour qu'un coronavirus puisse entrer dans une cellule et l'infecter, il faut que celui-ci (par l'intermédiaire de ses protéines de spicule) reconnaisse un récepteur (protéines, lipides, carbohydrates) présent au niveau de la cellule (Kuhn JH et al.,2004).L'ACE2 semblent être la porte d'entrée du COVID-19 dans l'organisme humain et agirait donc comme récepteur au COVID-19 (Kuba K et al.,2005)(Hoffmann M et al.,2020)(Figure N° 11).

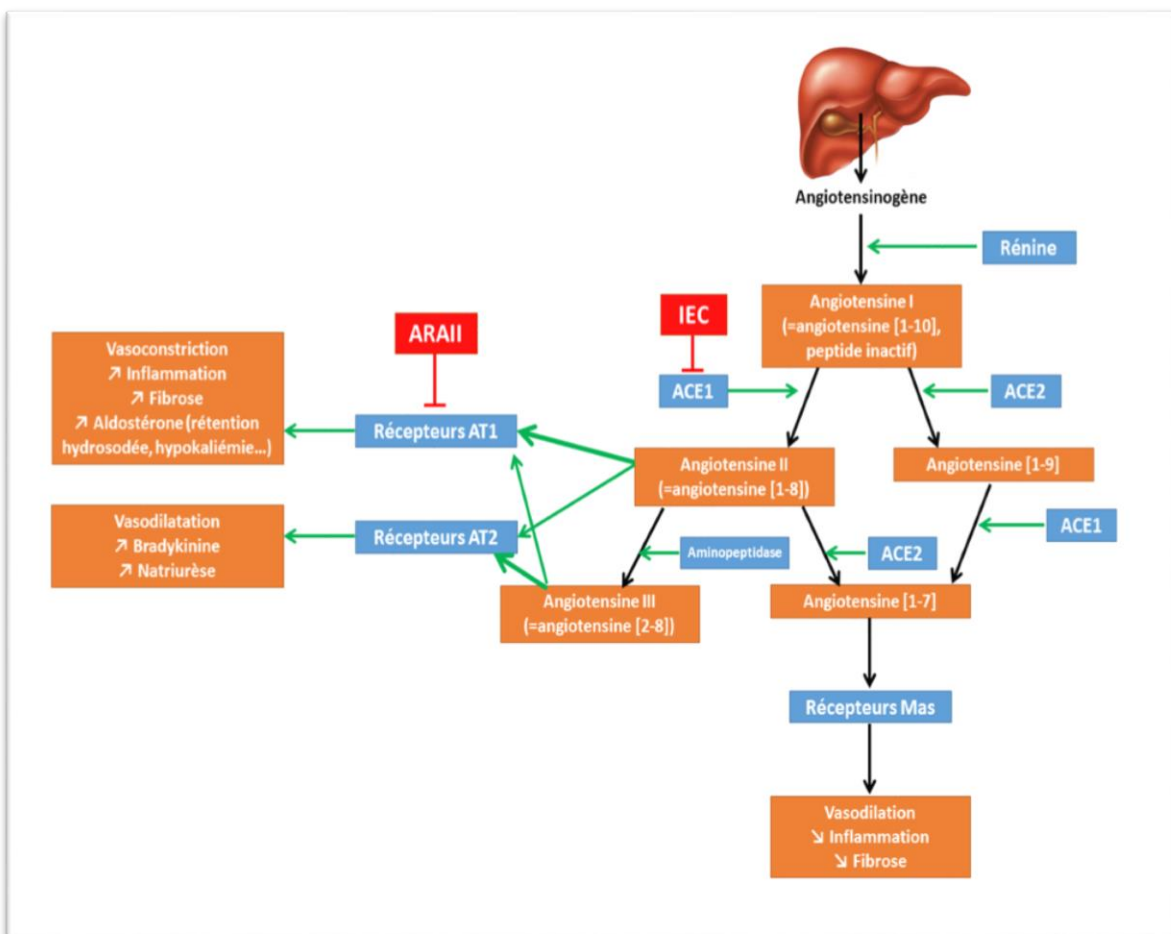


Figure n°11 :Vue générale du système rénine-angiotensine-aldostérone en situation physiologique (Anne-claire N., 2020).

Certaines études animales ont retrouvé une corrélation positive entre le niveau d'expression d'ACE2 et le risque de déclarer une infection à COVID-19 (Hofmann H et



*al.,2004*). Ainsi, du fait de la fixation du COVID-19 sur ACE2, le virus entrainerait une diminution de l'activité d'ACE2, cette baisse d'activité ayant été rapportée comme facteur aggravant les lésions inflammatoires d'organes induites par le COVID-19, en particulier pulmonaires (**Kuba K et al.,2006**). Une étude animale a observé une diminution des taux d'ACE2 dans des poumons de souris après administration du SARS-coronavirus, concomitante d'une aggravation des fonctions respiratoires de celles-ci (**Kuba K et al.,2005**). L'administration d'ARAII (en l'occurrence ici losartan) améliorait les fonctions respiratoires de ces souris, potentiellement en rétablissant un niveau normal d'ACE2. Ainsi, le niveau d'expression d'ACE2 pourrait jouer un rôle dans le risque de déclarer une infection à COVID-19 et le risque de développer une forme plus sévère de la maladie. De même, dans une étude rétrospective récente incluant 175 patients chinois infectés par le COVID-19 et nécessitant une hospitalisation, les auteurs ont observés que 62 % des patients présentaient une hypokaliémie. Les auteurs expliquent cette hypokaliémie par une modification de la voie de clairance de l'angiotensine II avec un déplacement de la balance ACE1/ACE2 (diminution de l'activité ACE2 causée par la COVID-19), en faveur de l'ACE1 favorisant ainsi la synthèse d'aldostérone et la survenue d'une hypokaliémie (**Chen D et al.,2020**). Au total, il est clair qu'ACE2 et en particulier le niveau d'expression d'ACE2 semble jouer un rôle primordial dans l'infection à COVID-19. Cependant, son rôle exact semble complexe avec potentiellement un rôle délétère lors de la phase de contamination virale puis servant de récepteur au COVID-19 (et niveau de sévérité corrélé au niveau d'expression d'ACE2 ?) et à la fois un rôle bénéfique lors de la phase de lésions tissulaires inflammatoires causées par le COVID-19 (**Zhang H et al.,2020**). Beaucoup de questions restent donc sans réponse actuellement. À notre connaissance, il n'existe pas d'activateur ou d'inhibiteur pharmacologique d'ACE2 utilisable chez l'Homme à ce jour. Certaines équipes ont proposé l'administration d'ACE2 sans que l'on puisse en tirer des résultats définitifs à ce jour (**Battle D et al., 2020**).

### **1.2.IEC-ARAII et COVID-19 :**

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, appelés couramment IEC, dont l'action pharmacologique principale est une inhibition de l'ACE1 (une éventuelle action également sur l'ACE2 n'a jamais été décrite à ce jour et actuellement les IEC sont donc considérés comme n'ayant aucun effet pharmacologique sur ACE2 (**Warner FJ et al.,2004**)) permettant un blocage de la synthèse d'angiotensine II. Les IEC, comme les ARAII, sont prescrits très couramment dans le traitement de fond de certaines maladies cardiovasculaires chroniques incluant l'hypertension artérielle, l'insuffisance cardiaque et la

néphropathie diabétique. Des modèles animaux non infectés par le COVID-19 se sont intéressés à l'impact des traitements par IEC ou par ARAII sur le niveau d'expression d'ACE2 et ont retrouvé une augmentation de l'expression tissulaire de l'ACE2, en particulier au niveau cardiaque (**Ocaranza MP et al., 2006 ; Ferrario CM et al.,2005 ; Lshiyama Y et al.,2004**). Ces données retrouvées chez l'animal non pas actuellement étaient confirmées chez l'Homme sain (non infecté par le COVID-19) (**Ramchand J et al.,2018 ; Walters TE et al., 2017**). Certaines équipes suggèrent que l'augmentation des niveaux d'expression d'angiotensine II seraient à l'origine d'une réponse « compensatrice » à l'origine d'une augmentation du niveau d'expression d'ACE2 et que par conséquent, chez l'Homme, seuls les ARAII pourraient induire cette élévation d'ACE2 (les IEC ne seraient pas associés à une élévation du niveau d'expression d'ACE2 du fait de l'inhibition de la synthèse d'angiotensine II) (**Deshotels MR et al.,2014**). De même, les ARAII, en bloquant les récepteurs AT1 pourraient également favoriser la clairance de l'angiotensine II en angiotensine III et ainsi favoriser les effets bénéfiques en lien avec l'activation des récepteurs AT2. Il faut par ailleurs souligner que les maladies cardiovasculaires elles-mêmes, en particulier l'insuffisance cardiaque, l'hypertension artérielle et le diabète, sont également associées à une augmentation de l'expression d'ACE2 dans des modèles animaux non infectés par le COVID-19 et ce indépendamment d'une prise d'IEC/ARAII(**Fang L et al.,2020 ; Goulter AB et al.,2004 ; Anguiano L et al.,2017**)et que la situation clinique (infection non encore contractée/infection déjà contractée, patients sans/avec antécédents cardiovasculaires, patients avec antécédents cardiovasculaires et infection à COVID-19). À ce jour, l'impact (bénéfique/délétère) des IEC/ARAII sur l'infection à COVID-19 chez l'Homme reste donc inconnu. Certains auteurs suggèrent que les ARAII, et non pas les IEC, pourraient même avoir des effets bénéfiques chez les patients déjà infectés par le COVID-19 (**Gurwitz D, 2020**).

À noter que la prise d'autres médicaments antihypertenseurs ou à visée cardiovasculaire comme les dihydropyridines (**Bai S et al., 2013 ; Takai S et al.,2013**), l'association sacubitril-valsartan (**ZhaoY et al.,2019**), les diurétiques thiazidiques (**Jessup JA et al.,2008**) ou les antagonistes du récepteur aux minéral corticoïdes (**Dong D et al.,2019 ; Yamamuro M et al.,2008**) ont été associées à une modulation de l'expression tissulaire d'ACE2 au cours d'études animales. Concernant les bêtabloquants, nous avons retrouvé une seule étude animale ne montrant pas d'impact de l'aténolol sur l'expression tissulaire (aorte) d'ACE2 (**Lgase M et al ., 2005**).

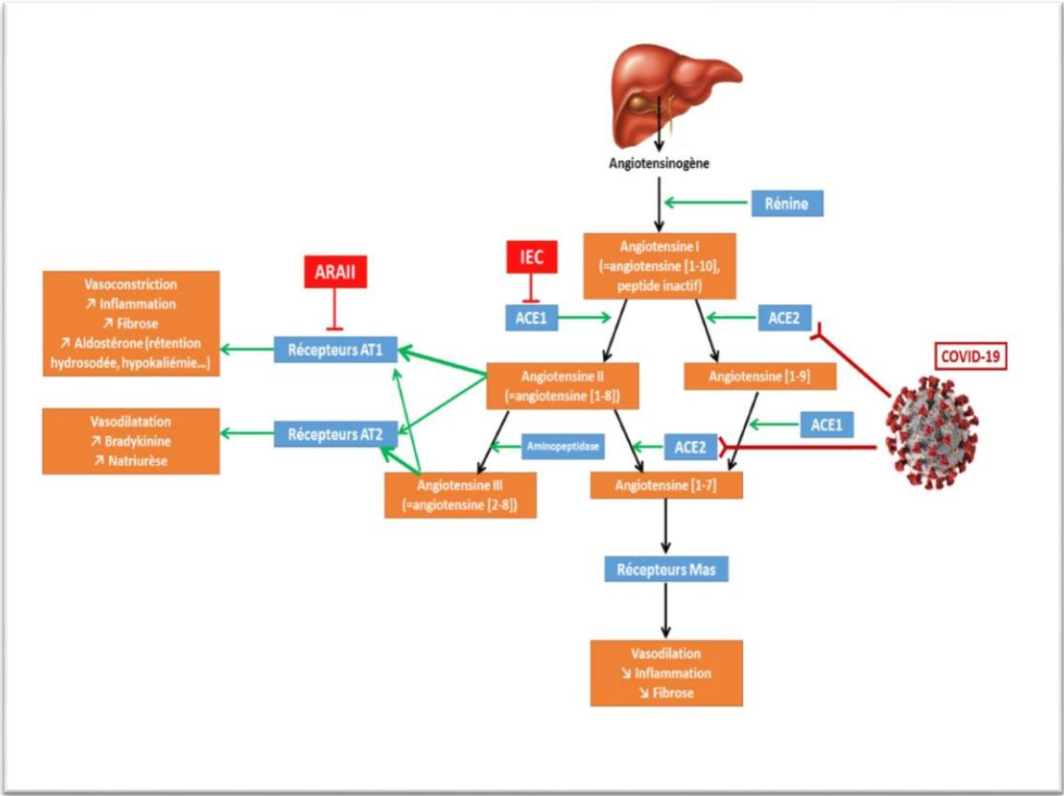


Figure n°12 :Vue générale du système rénine-angiotensine-aldostérone en cas d’infection par le COVID-19 (Anne-claire N., 2020).

Objectif :

La pandémie à coronavirus (covid-19) est causée par le virus SARS-CoV-2 qui a montré une capacité de propagation importante par rapport aux précédents virus SARS-Cov et MERS-CoV. Plusieurs facteurs peuvent être incriminés dans la sensibilité à l'infection et à la sévérité de la maladie, parmi eux le facteur génétique.

Au cours de ces dernières années, la biologie moléculaire a modifié considérablement le diagnostic de routine des maladies infectieuses. Toute étude de génétique moléculaire implique la disposition d'échantillon d'acides nucléiques. Les techniques d'extraction d'acides nucléiques sont relativement simples. En effet, l'extraction d'ADN est la première étape dans la plupart des études de biologie moléculaire.

Dans ce travail de mémoire, un recrutement de patients atteints du SARS-COV-2 a été prévu dans les services « Covid-19 » au niveau de trois hôpitaux de Mostaganem. Par la suite, des prélèvements sanguins ont été réalisés sur tubes EDTA.

Finalement, nous nous sommes intéressées à extraire de l'ADN génomique à partir du sang total humain des sujets atteints de Covid-19 par la technique au NaCl.

La partie pratique de ce mémoire vise à comprendre le principe d'extraction d'ADN génomique à partir du sang total.

Les ADNs extraits seront visualisés par la suite par une étape d'électrophorèse sur gel d'agarose.

# **Partie expérimental**

# **Chapitre I :**

## **Matériel et Méthodes**

# Chapitre I : Matériel et Méthodes

---

## 1. Matériel :

### 1.1. Population d'étude :

Nous avons réalisé un stage pratique dans trois services de COVID-19 au niveau de trois hôpitaux de Mostaganem : Aine -Tadlesse, Che-Guevara et Sidi -Ali. Ce stage a eu lieu pendant le mois de Mars de l'année 2022.

Nous avons participé au recrutement des malades hospitalisés au niveau des trois services. En effet, des prélèvements sanguins ont été réalisés sur des tubes EDTA de 4ml.

De plus, nous avons rempli des fiches de renseignements détaillés et de consentement pour chaque patient prélevé.

### 1.2. Le matériel utilisé pour l'extraction d'ADN:

Pour réaliser l'étape de l'extraction d'ADN, plusieurs verreries et consommables ont été utilisés :

- Eppendorf
- Tubes EDTA
- Pipettes Pasteur
- Micro-pipette

### Produits et solutions utilisés :

- TE 10/10
- TE 10/1
- Protéinase K (30mg /ml).
- SLB (la solution de lyse des globules blancs)
- NaCl (5M)
- Éthanol absolue (96,7%)

### 1.3. Matériel de l'électrophorèse :

- Eppovette Graduée
- Micropipette
- Eppendorf Tube
- La Cuve A Electrophorèse

# Chapitre I : Matériel et Méthodes

---

## Produit utilisé l'électrophorèse :

- Agarose
- TBE 1X
- Golden view
- Bleu de bromophénol

## 2. Méthode :

Nous avons réalisé les techniques d'extraction d'ADN et de l'électrophorèse au niveau du Laboratoire de Génétique Moléculaire et Cellulaire (LGMC) à l'Université des Sciences et de la Technologie d'Oran.

### 2.1. La méthode saline " salting out " :

Le principe d'un « salting out », c'est une déshydratation suivie d'une précipitation des protéines par une solution de chlorure de sodium saturée (NaCl) qui va provoquer une déshydratation des protéines, entraînant une interaction hydrophobe entre elles et leur précipitation. Après précipitation des protéines, l'ADN est précipité par de l'éthanol puis repris en suspension (Jeannesson., 2007).

### 2.2. Extraction d'ADN à partir du sang total par la technique du « salting out » :

L'ADN est une macromolécule présente dans toutes les cellules, elle porte l'information génétique de tout organisme cellulaire. En effet, l'étape de l'extraction d'ADN est la première et primordiale étape de toutes les études de biologie moléculaire. C'est une technique qui permet d'isoler l'ADN des cellules ou des tissus. L'ADN ainsi extrait peut ensuite être utilisé pour des recherches de biologie moléculaire telles que : le séquençage et la PCR.

#### 2.2.1. Lyse des globules rouges :

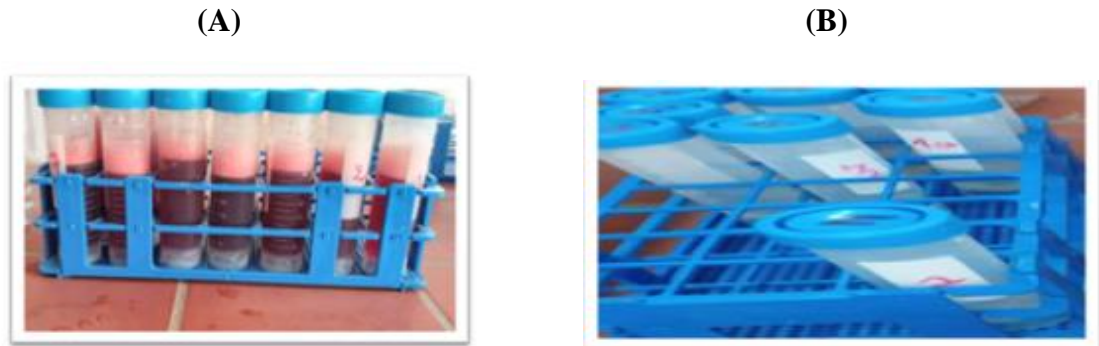
Après décongélation des 12 tubes de sang total au bain marie à 38 °C, la lyse des globules rouges est réalisée en complétant le volume de sang avec une solution hypotonique TE10/10 (Tris/EDTA) en agitant fortement, puis, les tubes sont mis dans la glace pendant 30 min (l'action conjuguée du Tris et du froid provoque un choc hypotonique conduisant à l'éclatement des globules rouges par la fragilisation de leurs membranes). Le lysat est centrifugé après à 2500 tours/min pendant 15 min. La centrifugation permet de séparer le



## Chapitre I : Matériel et Méthodes

---

Surnageant qui contient les débris de globules rouges et plasma et le culot qui contient les globules blancs. Cette étape est à répéter plusieurs fois jusqu'à avoir un culot blanchâtre dépourvu de globules rouges.



**Figure 13:** Photo prise pendant l'étape de lavage sanguin (A) le début de lavage sanguin et (B) la dernière étape de lavage obtention de culot .

### 2.2.2. Lyse des globules blancs :

Le culot contenant les leucocytes est traité par la solution de lyse des globules blancs SLB, et de la protéinase K (30 unités/ mL). Ces solutions sont additionnées pour digérer les protéines associées à l'ADN nucléaire et celles présentes dans la cellule. Après homogénéisation, la suspension obtenue est intubée une nuit à 37°C dans un bain-marie sous agitation douce.



**Figure 14 :** Photo prise de l'enzyme protéinase K lyophilisé (30 unités /mL)

### 2.2.3. Précipitation de l'ADN :

## Chapitre I : Matériel et Méthodes

Le 2<sup>ème</sup> jour, l'ADN est extrait par précipitation de protéine par l'ajout de la solution de NaCl (5M), après une agitation vigoureuse (15 sec) ; les protéines sont éliminées par centrifugation à 4000 Tours pendant 10 min. La précipitation de l'ADN est effectuée en utilisant un double volume de la solution d'éthanol absolu froid pour faciliter la récupération de la méduse. En effet, l'ADN se précipite par agitation en retournant délicatement le tube jusqu'à ce que les filaments d'ADN forment une méduse.

### 2.2.4. Récupération de la méduse :

Après la formation de la méduse d'ADN, on peut la récupérer par une pipette pasteur scellée, la rincer une fois à l'éthanol à 70% puis à 100% afin d'éliminer les traces de sel.

Ensuite, la méduse est placée dans un tube Eppendorf vide pour la laissé sécher à l'air libre. Et enfin rajouter à la méduse un tampon TE 10 /1 pour conserver la molécule d'ADN extraite.

Afin de diluer la méduse dans le tampon, il est important de laisser les Eppendorf sur agitation lente au bain-marie pendant au moins une semaine, puis on peut les récupérer pour les conserver au congélateur (-20°C).

(C)



(D)

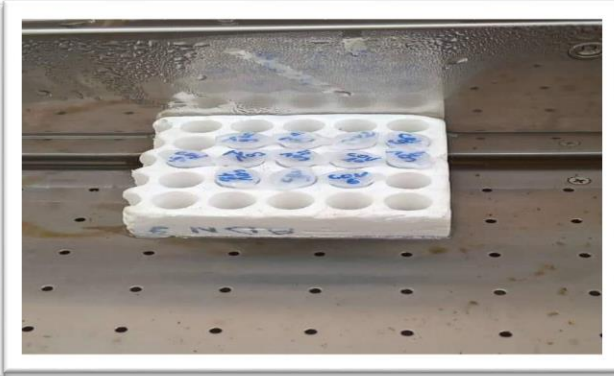


**Figure 15** : (C) photo prise pendant la récupération de la méduse. (D) photo prise pendant le rinçage de la méduse à 70% puis 100%.

(E)



(F)



**Figure 16 :** (E) Récupération des échantillons sur le portoir. (F) les 12 échantillons de l'ADN dans le bain-marie.

### 2.3. Visualisation de l'ADN extrait par électrophorèse sur gel d'agarose :

Les ADNs extraits sont analysés selon leur poids moléculaire par migration sur gel d'agarose dans un tampon de migration TBE (Tris Borate EDTA/1X). Nous avons préparé un gel d'agarose concentré à 1%.

Nous avons déposé dans chaque puits 5 $\mu$ l d'ADN plus un microlitre de bleu de bromophénole ; ce dernier marque le fond de migration de l'ADN. elle doit être précédée par une étape de lyse cellulaire

Ensuite, on a lancé une migration à 100 Voltes pendant 15 min. Après migration, on place le gel sur un éclairage ultraviolet (plaque à UV) qui servira à exciter les molécules du *golden view* fixées aux molécules d'ADN auparavant, lesquelles vont émettre une lumière visible, permettant de visualiser la position des fragments d'ADN sur le gel.

### 2.4. Analyse statistique :

Nous avons effectué une étude épidémiologique et descriptive à partir des fiches de renseignements des sujets prélevés au niveau des trois services. Nous avons utilisé Microsoft Excel.

# **Chapitre II :**

## **Résultats et discussion**

**1. Population d'étude :**

Durant le stage pratique, nous avons pu prélever 12 échantillons de sang total à partir des cas COVID-19 au niveau des trois services des hôpitaux (Sidi-Ali / Aine Tadel / Che-Guevare) (**Tableau 3**). Cette période de stage coïncidait avec la fin de la 4<sup>ème</sup> vague de covid-19.

**Tableau 3 :** Répartition des patients prélevés selon les services des hôpitaux.

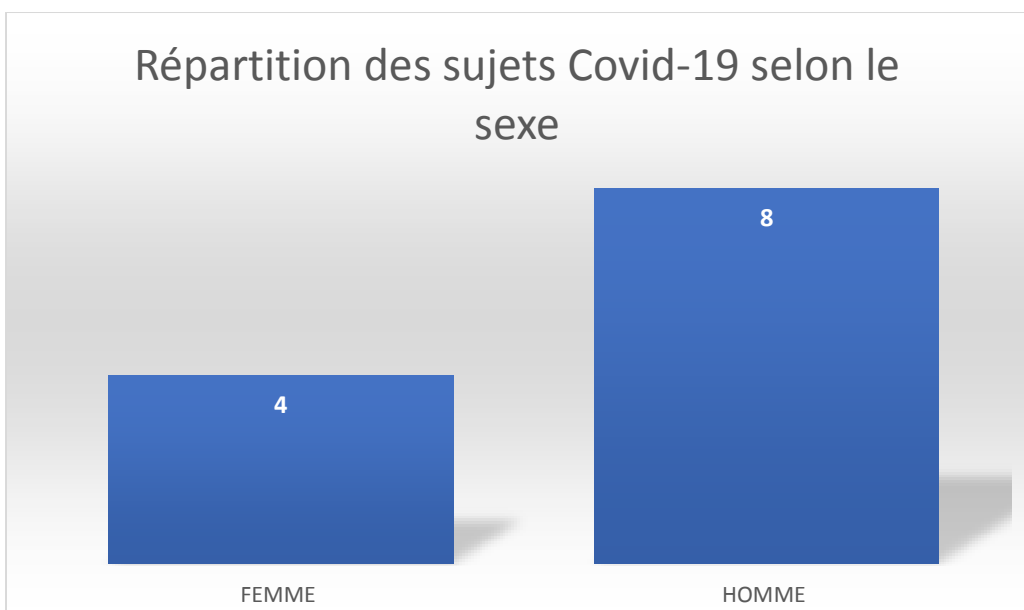
Hôpitaux	Nombre de prélèvement
Aïn-Tadels	2
Sid Ali	4
Che-Guevare	6

**2. Caractéristiques épidémiologiques des sujets de l'étude :**

Ce groupe des 12 sujets prélevés est constitué de 8 hommes et 4 femmes comme illustré sur la **figure 17**. Ces sujets sont âgés entre 52ans et 89ans avec une moyenne d'âge de 73ans. De plus, parmi les 8 hommes Covid-19, 3 hommes sont des fumeurs.

**2.1. Répartition des sujets covid19 selon le sexe et l'âge :**

Nous observons que la majorité de ces cas hospitalisés à Mostaganem font partie de la tranche d'âge > 60ans. Ces observations reflètent la réalité concernant presque tous les hôpitaux de la wilaya et de l'Algérie.

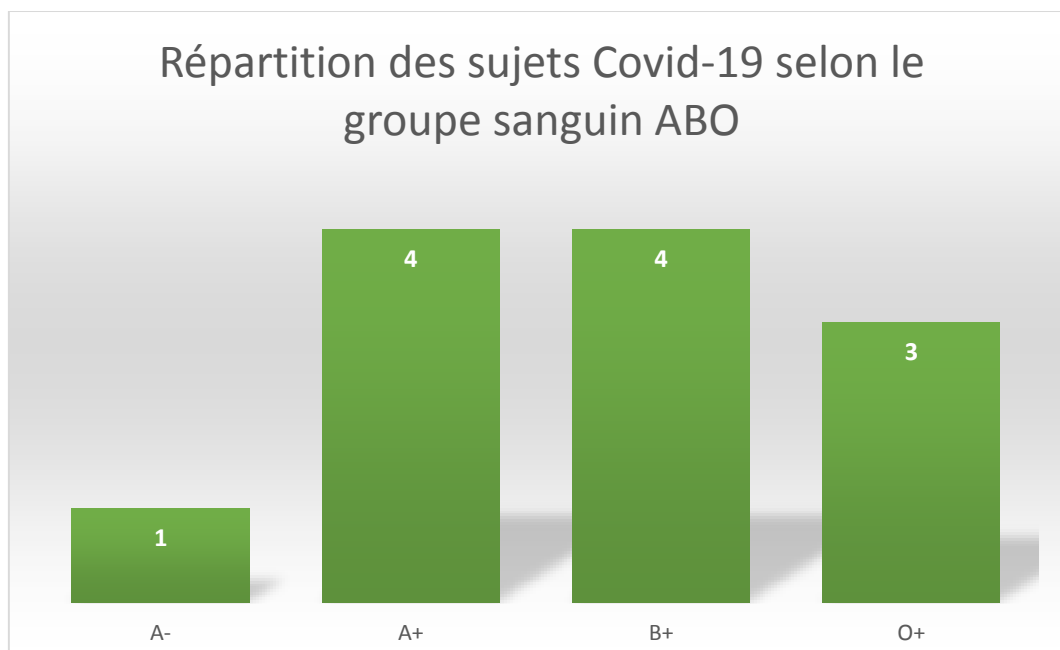


**Figure 17 :** Répartition des sujets Covid-19 selon le sexe

Il a été montré que dans l'hôpital de Che-guivara, la tranche d'âge la plus touchée les courbes montrent une atteinte importante concernant les deux tranches d'âge ; plus de 56 ans et le groupe entre 26 et 46 ans. La tranche d'âge la plus touchée par le Covid 19 est celle de plus de 56 ans. Plusieurs facteurs peuvent expliquer l'infection de la maladie dans cette tranche d'âge. D'abord, les facteurs immunologiques et d'inflammation chronique sont impliqués dans diverses maladies liées au vieillissement et sont corrélés avec une mauvaise réponse à la vaccination. Ensuite, il y a l'impact du coronavirus sur les systèmes physiologiques et les facteurs hormonaux (obésité, diabète, cardiovasculaires.....). La deuxième tranche d'âge des plus touchés est celle des adultes jeunes (26-45ans). En effet, cette catégorie est la population en âge de travailler et celle la plus active dans la société Algérienne. Par ailleurs, les enfants sont beaucoup moins contaminés entre eux et les adultes qui les entourent. Cette observation a été expliquée par l'élimination des virus grâce à l'immunité innée des enfants. Ceci est concordance avec les résultats trouvés dans notre mémoire ( **Manad kh et Meralet Z., 2022**).

## 2.2. Répartition des sujets covid19 selon le groupe sanguin ABO :

Concernant la répartition des groupes sanguins ABO, les 12 sujets Covid-19 appartiennent aux groupes : A+, B+, O+ et A- comme présenté sur **la Figure 18**. Une légère prédominance des groupes A+ et B+ est observée dans ce petit groupe.



**Figure 18** : Répartition des sujets Covid-19 selon le groupe sanguin ABO

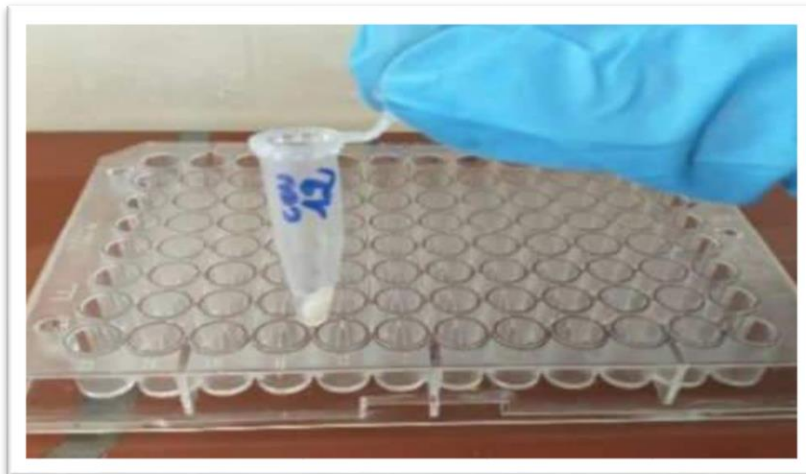
Plusieurs études portées sur la COVID-19 en Chine et en Amérique ont mis en évidence des relations directes entre le groupe sanguin ABO et cette maladie (**Bing-Bing.W et al .,**

2020). Toutefois, le consensus qui a émergé suggère que le groupe sanguin O aurait un effet protecteur contre la maladie, tandis que les autres groupes sanguins, A, B ou AB (non-O) auraient l'effet inverse. Différentes hypothèses ont été émises pour tenter d'expliquer ces observations (Jacques. P. et al, 2021).

## 2. Résultats de l'extraction d'ADN :

Nous avons fait l'extraction d'ADN par la méthode du (salting-out) au laboratoire de LGMC, USTO-MB sur les 12 tubes de sang déjà prélevés.

Nous avons obtenu 12 méduses d'ADN de taille différente, L'ordre de la formation de la méduse nous avons obtenus 8 échantillons (1-2-5-6-7-10-11-12) de bonne taille (**Figure 19**), alors qu'on difficilement pu reconstituer pour les 4 autres méduses (3-4-8-9) qui étaient sous forme de petits micro-filaments.



**Figure 19:** Obtention de la méduse d'ADN à partir du patient numéro 12.

## 3. Résultats de l'électrophorèse :

Dans le cas d'une préparation d'ADN génomique, on observe sous UV un continuum de bandes correspondant aux fragments d'ADN issus de la coupure statique du chromosome, c'est le résultat des traitements mécaniques lors de l'extraction de l'ADN

Parmi l'ensemble des échantillons, nous avons pu observer 8 continums d'ADN après l'électrophorèse sur gel d'agarose concernant les échantillons (1-2-5-6-7-10-11-12) comme illustré sur la **Figure 19** Ces derniers échantillons sont les mêmes qui ont donné des méduses bien définies. Cependant, nous n'avons eu aucun résultat d'électrophorèse concernant les échantillons restant ceux qu'on a difficilement pu reconstituer (3-4-8-9) (**Figure 19**).



**Figure 20:** Résultat de l'électrophorèse sur gel d'agarose des 12 ADN<sub>s</sub> extraits.

### 5. Discussion :

Les résultats de l'étape de l'extraction d'ADN nous ont permis finalement d'extraire 7 molécules d'ADN bien déterminées sur un gel d'agarose à 1%. En effet, nous avons choisi cette concentration par rapport à la taille d'ADN génomique humain qui dépassent les millions de paires de bases.

Par ailleurs, nous n'avons obtenu aucun résultat concernant les 5 tubes restants. Cette absence de continuum sur le gel peut refléter l'absence de l'ADN dans les tubes Eppendorf. Ceci peut être expliqué par une erreur de manipulation lors de la récupération de la méduse.

Nous avons utilisé dans ce mémoire de Master la technique d'extraction par les solutions salines (solvant non organique) pour l'extraction de l'ADN génomique. La technique « salting-out » est une technique classique où les protéines et d'autres contaminants sont précipités à partir du lysat cellulaire en utilisant de hautes concentrations en sel tels que l'acétate de potassium ou le chlorure de sodium (NaCl). Cette méthode d'extraction est rapide et simple et non coûteuse, mais elle ne permet pas d'éliminer toutes les protéines et les autres contaminants qui nous nécessitent parfois un traitement avec la ribonucléase (ARN ase).

D'autres techniques d'extraction ont été développées pour l'extraction d'ADN telle que la méthode par le phénol-chloroforme. Cette méthode est très utilisée, la pureté de l'ADN est



meilleure (ADN pure). Cependant, cette technique est lourde car on doit être précédée par une étape de lyse cellulaire et elle est toxique car le phénol réside dans son caractère très toxique et corrosif. C'est une technique qui nécessite un équipement particulière pour être manipulé

Par ailleurs, nous devrions réaliser un test de quantification des ADNs extraits par spectrophotométrie afin de mesurer la concentration des ADNs et calculer le ratio pour vérifier la qualité des molécules extraites. Malheureusement, nous n'avons pas eu le temps de réaliser cette étape primordiale.

# Conclusion

## Conclusion

---

Toute étude de génétique moléculaire implique la disposition d'échantillon d'acides nucléiques (ADN ou ARN). Les techniques d'extraction de ces acides nucléiques sont relativement simples. Dans notre présent travail, nous avons réalisé l'extraction d'ADN à partir du sang humain total. Le sang a été collecté dans des tubes contenant l'EDTA pour éviter la coagulation du sang. Dans cette étude, la méthode d'extraction que nous avons utilisée est la technique du «Salting out». Cette méthode permet d'isoler l'ADN d'une manière rapide, efficace et afin d'obtenir une molécule d'ADN de bonne qualité et quantité. La méthode d'extraction de l'ADN par (salting-out) est sans danger par rapport à la technique du phénol-chloroforme et elle n'est pas coûteuse.

Il est nécessaire de d'augmenter le nombre de prélèvements des sujet covid-19 à Mostaganem ou en Algérie. De plus, il est important de faire le dosage optique des ADNs extraits afin d'estimer leur quantité et la qualité.

L'ADN ainsi extrait peut ensuite être utilisé pour des recherches de biologie moléculaire, telles que le séquençage, la PCR ou le clonage. Pour la continuité de notre travail expérimental, nous aimerions faire une partie moléculaire telle que l'étude de l'impact des polymorphismes du gène ACE2.

# **Référence**

# **Bibliographiques**

## Référence bibliographiques

---

### Référence :

#### A

- A Milibari Current Situation of Coronavirus Disease, health science journal, (2020).
- Alberta Health Services. COVID-19 Scientific Advisory Group rapid response report. Key research question: What is the evidence supporting the possibility of asymptomatic transmission of SARS-CoV-2? Edmonton, AB: Government of Alberta; 2020 Apr 13. Available from <https://www.albertahealthservices.ca/assets/info/ppih/if-ppih-covid-19-rapid-response-asymptomatic-transmission.pdf>.
- Ameziane N., Bogard M & Lamoril J., (2006). Principes de biologie moléculaire en biologie clinique. Ed, Elsevier Masson. Paris.
- Anguiano L, Riera M, Pascual J, Soler MJ. Circulating ACE2 in cardiovascular and kidney diseases. *Curr Med Chem* 2017;24(30):3231 - 41.
- Anne-claire N., 24/03/ 2020 .Article ace2 , iec /araII et infection à covid 19.
- Annweiler C, Sacco G, Salles N et al. National French survey of COVID-19 symptoms in people aged 70 and over [published online ahead of print, 2020 Jun 18]. *Clin Infect Dis*. 2020;ciaa792. doi:10.1093/cid/ciaa792 [Article PMC gratuit] [PubMed].
- Arav Y, Klausner Z, Fattal E. Understanding the indoor pre-symptomatic transmission mechanism of COVID-19. medRxiv. 2020 May 17. Available from: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.05.12.20099085>.
- Arndt, A. L., Larson, B. J., & Hogue, B. G. (2010). A conserved domain in the coronavirus membrane protein is important for virus assembly. *Journal of virology*, 84(21), 11418–11428.
- Arvinet Greenberg ,2005. vaccin contre la rougeole <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2529474-vaccin-rougeole-age-rappels-efficacite-prix-remboursement-autisme/>, consulté le 06/05/2021.
- Astrid V et Meriadeg Ar. CHAPITRE38\_CORONAVIRUS\_TVM2019.pdf [Internet]. [cité 26 nov 2020]. Disponible sur: [https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/04/CHAPITRE38\\_CORONAVIRUS\\_TVM2019.pdf](https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/04/CHAPITRE38_CORONAVIRUS_TVM2019.pdf) Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa316>.

#### B

## Référence bibliographiques

---

- Bai S, Huang ZG, Chen L, Wang JT, Ding BP. Effects of felodipine combined with puerarin on ACE2-Ang (1-7)-Mas axis in renovascular hypertensive rat. *Regul Pept* 2013;184:54- 61
- Batlle D, Wysocki J, Satchell K. Soluble angiotensin-converting enzyme 2: a potential approach for coronavirus infection therapy? *Clin Sci Lond Engl* 2020;134(5):543- 5.
- Bing –Bing, W. et al, (2020), infection, association between ABO blood groups and Covid-19 and infection, severity and de mise : asystematic review and meta-analysis, elsevier, p1-8.
- Belouzard, S., Millet, J. K., Licitra, B. N., & Whittaker, G. R. (2012). Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses*, 4(6), 1011–1033.
- Beniac, D. R., Andonov, A., Grudeski, E., & Booth, T. F. (2006). Architecture of the SARS coronavirus prefusion spike. *Nature structural & molecular biology*, 13(8), 751–752.
- Bertholom C. Sars-CoV-2 : émergence, aspects virologiques et diagnostiques. *Option/Bio*. oct 2020;31(623):21.
- Bertholom C. Sars-CoV-2 : émergence, aspects virologiques et diagnostiques. *Option/Bio*. oct 2020;31(623):21.
- Bourdon B. Le cycle viral de SARS-CoV-2 | Arbre des Connaissances [Internet]. [cité 26 nov 2020]. Disponible sur: <http://arbre-des-connaissances-apsr.org/2020/05/29/le-cycle-viral-de-sars-cov-2/> .
- Brown T., (2010). *Gene Cloning and DNA Analysis : An Introduction* 6th edition. Ed, John Wiley and Sons. USA.
- Buglioni A, Burnett JC. New pharmacological strategies to increase cGMP. *Annu Rev Med* 2016;67(1):229- 43.

### C

- CAUDAL Héléna. Enquête sur le ressenti et les croyances des parents autour de la vaccination de leurs enfants et élaboration d'un outil destiné à aider les professionnels de Santé. Thèse soutenue le 19/09/ 2017 à l'Université de Nantes, Faculté de Sciences pharmaceutiques et biologiques, France.
- Chang, C. K., Sue, S. C., Yu, T. H., Hsieh, C. M., Tsai, C. K. et al. (2006). Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. *Journal of biomedical science*, 13(1), 59–72.

## Référence bibliographiques

---

- Chen D, Li X, Song Q, Hu C, Su F, Dai J. Hypokalemia and clinical implications in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). medRxiv 2020;2020.02.27.20028530.
- Chen WH, Hotez PJ, Bottazzi ME. Potential for developing a SARS-CoVreceptor-bindingdomain(RBD) recombinant protein as a heterologoushuman vaccine against coronavirus infectiousdisease (COVID)-19.Hum Vaccin Immunother 2020;16(6):1239-42<http://dx.doi.org/10.1080/21645515.2020.1740560> .
- Coronavirus statistiques Etats-Unis | EN DIRECT [Internet]. Coronavirus Statistiques. [cité 21 mars 2021]. Disponible sur: <https://www.coronavirus-statistiques.com/stats-pays/coronavirus-nombre-de-cas-etats-unis/>.
- Coutinho DCO, Monnerat-Cahli G, Ferreira AJ, Medei E. Activation of angiotensin-converting enzyme 2 improvescardiacelectrical changes in ventricularre polarization in streptozotocin-inducedhyperglycaemic rats. EP Eur 2014;16(11):1689- 96.
- COVID-19 – Chronologie de l’action de l’OMS [Internet]. [cité 21 mars 2021]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news/item/27-04-2020-who-timeline---covid-19>.
- Covid-19 : la HAS se prononce sur les tests salivaires RT-LAMP et met à jour les indications des tests antigéniques [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 24 janv 2021]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/p\\_3221157/fr/covid-19-la-has-se-prononce-sur-les-tests-salivaires-rt-lamp-et-met-a-jour-les-indications-des-tests-antigeniques](https://www.has-sante.fr/jcms/p_3221157/fr/covid-19-la-has-se-prononce-sur-les-tests-salivaires-rt-lamp-et-met-a-jour-les-indications-des-tests-antigeniques).
- COVID-19 Vaccination Considerations for Obstetric–Gynecologic Care,[https://www.acog.org/clinical/clinical-guidance/practice-advisory/articles/2020/12/covid-19-vaccination-considerations-for-obstetric-gynecologiccare?utm\\_source=redirect&utm\\_medium=web&utm\\_campaign=int](https://www.acog.org/clinical/clinical-guidance/practice-advisory/articles/2020/12/covid-19-vaccination-considerations-for-obstetric-gynecologiccare?utm_source=redirect&utm_medium=web&utm_campaign=int).
- Cui, L., Wang, H., Ji, Y., Yang, J., Xu, S., Huang, X. et al. (2015). The Nucleocapsid Protein of Coronaviruses Acts as a Viral Suppressor of RNA Silencing in Mammalian Cells. Journal of virology, 89(17), 9029–9043.

### D

- Day T, Gandon S, Lion S, Otto SP. On the evolutionary epidemiology of SARS-CoV-2. CurrBiol. 2020. Availablefrom: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.06.031>.
- De Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, et al. SARS and MERS: recent insights intoemergingcoronaviruses. Nat RevMicrobiol 2016 ; 14 : 523–534.

## Référence bibliographiques

---

- DeDiego, M. L., Alvarez, E., Almazán, F., Rejas, M. T., Lamirande, E. et al. (2007). A severe acute respiratory syndrome coronavirus that lacks the E gene is attenuated in vitro and in vivo. *Journal of virology*, 81(4), 1701–1713.
- Deshotel MR, Xia H, Sriramula S, Lazartigues E, Filipeanu CM. Angiotensin II mediates angiotensin converting enzyme type 2 internalization and degradation through an angiotensin II type I receptor-dependent mechanism. *Hypertension* 2014;64(6):1368- 75.
- Dhama, K., Khan, S., Tiwari, R., Sircar, S., Bhat, S. et al. (2020). Coronavirus Disease 2019-COVID-19. *Clinical microbiology reviews*, 33(4), e00028-20.
- Dhama, K., Khan, S., Tiwari, R., Sircar, S., Bhat, S. et al. (2020). Coronavirus Disease 2019-COVID-19. *Clinical microbiology reviews*, 33(4), e00028-20.
- Dong D, Fan TT, Ji YS, Yu JY, Wu S, Zhang L. Spironolactone alleviates diabetic nephropathy through promoting autophagy in podocytes. *Int Urol Nephrol* 2019;51(4):755- 64.
- Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9. *Circ Res* 2000;87(5):E1-9.

### E

- Edouard Desvaux et Jean-François Faucher . Covid -19 : aspects cliniques et principaux éléments de prise en charge . *Rev Francoph Lab* .2020 Nov ;2020(526) :40-47.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Transmission of COVID-19. Stockholm Sweden : EDCD; 2020. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/transmission>.

### F

- Fan, H., Ooi, A., Tan, Y. W., Wang, S., Fang, S., Liu, D. X., & Lescar, J. (2005). The nucleocapsid protein of coronavirus infectious bronchitis virus : crystal structure of its N-terminal domain and multimerization properties. *Structure (London, England : 1993)*, 13(12), 1859–1868.
- Ferrario CM, Jessup J, Chappell MC, Averill DB, Brosnihan KB, Tallant EA, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. *Circulation* 2005;111(20):2605- 10.
- Ferrario CM, Jessup J, Chappell MC, Averill DB, Brosnihan KB, Tallant EA, et al. Effect of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition and Angiotensin II



## Référence bibliographiques

---

ReceptorBlockers on CardiacAngiotensin-Converting Enzyme 2. Circulation. 24 mai 2005;111(20):2605- 10.

- Furuhashi M, Moniwa N, Mita T, Fuseya T, Ishimura S, Ohno K, et al. UrinaryAngiotensin-Converting Enzyme 2 in Hypertensive Patients May Be Increased by Olmesartan, an Angiotensin II ReceptorBlocker. Am J Hypertens. 1 janv 2015;28(1):15- 21.

### G

- Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, et al. The speciesSevere acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and namingit SARS-CoV-2. Nature Microbiol. 2020;5(4):536-544.
- Goulter AB, Goddard MJ, Allen JC, Clark KL. ACE2 gene expression is up-regulated in the humanfailingheart. BMC Med 2004;2:19.
- Grubaugh ND, Hanage WP, Rasmussen AL. Makingsense of mutation: what D614G means for the COVID-19 pandemicremainsunclear. Cell. 2020 Jul 3. Availablefrom: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.040>
- Gurwitz D. Angiotensinreceptorblockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics. Drug Dev Res 2020;10.1002/ddr.21656.

### H

- He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. Nat Med. 2020 May;26(5):672–5. Availablefrom: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>.
- Hediye-bag Derya , Thèse définition d'un cas covid ambulatoire par le biais d'une étude narrative et d'une étude typologique d'une cohorte de 1500 patients ambulatoires .20mai 2021.
- Heneghan C, Brassey J, Jefferson T. COVID-19: What proportion are asymptomatic? University of Oxford, Centre for Evidence BasedMedicine. 2020. Availablefrom: <https://www.cebm.net/covid-19/covid-19-what-proportion-are-asymptomatic/>.
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and isblocked by a clinicallyprovenproteaseinhibitor. Cell 4 mars 2020.
- Hofmann H, Geier M, Marzi A, Krumbiegel M, Peipp M, Fey GH, et al. Susceptibility to SARS coronavirus S protein-driven infection correlateswith expression of

## Référence bibliographiques

---

angiotensin-converting enzyme 2 and infection can be blocked by soluble receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;319(4):1216- 21.

<http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc2001737>.

- Hu Z, Song C, Xu C, Jin G, Chen Y, Xu X, et al. Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID-19 screened among close contacts in Nanjing, China. *Sci China Life Sci.* 2020 May 1;63(5):706–11. Available from: <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1661-4>.
- Hu Z., Song C., Xu C. Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID-19 screened among close contacts in Nanjing, China. *Sci China Life Sci.* 2020;63(5):706–711. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar].
- Hurst, K. R., Koetzner, C. A., & Masters, P. S. (2009). Identification of in vivo-interacting domains of the murine coronavirus nucleocapsid protein. *Journal of virology*, 83(14), 7221–7234.

### I

- ICTV, Coronaviridae - Virus à ARN à sens positif - Virus à ARN à sens positif (2011) - ICTV [Internet]. [cité 26 nov 2020]. Disponible sur: [https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv\\_9th\\_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna\\_viruses/222/coronaviridae](https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae).
- Igase M, Strawn WB, Gallagher PE, Geary RL, Ferrario CM. Angiotensin II AT1 receptors regulate ACE2 and angiotensin-(1-7) expression in the aorta of spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;289(3):H1013-1019.
- Iizuka K, Kusunoki A, Machida T, Hirafuji M. Angiotensin II reduces membranous angiotensin-converting enzyme 2 in pressurized human aortic endothelial cells. *J Renin-Angiotensin-Aldosterone Syst* 2009;10(4):210- 5.
- Ishiyama Y, Gallagher PE, Averill DB, Tallant EA, Brosnihan KB, Ferrario CM. Upregulation of angiotensin-converting enzyme 2 after myocardial infarction by blockade of angiotensin II receptors. *Hypertension* 2004;43(5):970- 6.

### J

## Référence bibliographiques

---

- Jeannesson E., (2007). «Profils génétiques de lignées cellulaires humaines modèles en physiopathologie et pharmacotoxicologie cardio-vasculaires», Thèse de Doctorat de université de Lorraine «université Henri Poincaré – Nancy », pp 27-39.
- Jacques, p. et al.(2021) Covid-19 et groupes sanguins ABO, EDP sciences, 37°(6-7), p.565-568.
- Jessup JA, Brosnihan KB, Gallagher PE, Chappell MC, Ferrario CM. Differentialeffect of low dose thiazides on the ReninAngiotensin system in genetically hypertensive and normotensive rats. J Am Soc Hypertens 2008;2(2):106- 15.
- Johns Hopkins Center for Health Security. Fact Sheet: SARS-CoV-2 Genetics. Baltimore, MD: Johns Hopkins University; 2020 Apr. Availablefrom: <https://www.centerforhealthsecurity.org/resources/COVID-19/index.html>.
- Juckel D, et al. Med Sci (Paris).2020;36(6-7):633-641.
- Julie LECLERC. La vaccination : histoire et conséquences épidémiologiques. Thèse soutenue le 01/07/2011 à l'Université de Limoges, France.
- Jungreis I, Sealfon R, Kellis M. Sarbecovirus comparative genomicselucidatesgene content of SARS-CoV-2 and functional impact of COVID-19 pandemic mutations [preprint]. bioRxiv 2020.<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.06.02.130955>.

### K

- Kakodkar P, Kaka N, Baig M. A ComprehensiveLiteratureReview on the ClinicalPresentation, and Management of the Pandemic Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Cureus [Internet]. [cité 26 nov 2020];12(4). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7138423/> .
- Karnik SS, Unal H, Kemp JR, Tirupula KC, Eguchi S, Vanderheyden PML, et al. International Union of Basic and ClinicalPharmacology. XCIX. AngiotensinReceptors: Interpreters of PathophysiologicalAngiotensinergic Stimuli [corrected]. PharmacolRev 2015;67(4):754- 819.
- Keidar S, Gamliel-Lazarovich A, Kaplan M, Pavlotzky E, Hamoud S, Hayek T, et al. Mineralocorticoidreceptorblockerincreasesangiotensin-converting enzyme 2 activity in congestive heartfailure patients. CircRes 2005;97(9):946- 53.
- Khailany RA, Safdar M, Ozaslan M. Genomiccharacterization of a novel SARS-CoV2. Gene Rep 2020;19:100682.<http://dx.doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100682>
- KHAOULA SASSIOUI. La vaccination. Thèse soutenue en 2010 à l'Université MOHAMMED V, Faculté de médecine et de pharmacie rabat, Maroc.

## Référence bibliographiques

---

- Kimball A, Hatfield KM, Arons M, James A, Taylor J, Spicer K, et al. Asymptomatic and presymptomatic SARS-CoV-2 infections in residents of a long-term care skilled nursing facility — King County, Washington, March 2020. *MMWR Morb Mortal WklyRep.* 2020 Apr 3;69:377-81. Available from: [https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/69/wr/mm6913e1.htm?s\\_cid=mm6913e1\\_w](https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/69/wr/mm6913e1.htm?s_cid=mm6913e1_w).
- Kissling S., Pruijm M. Vue sur le COVID-19 depuis la néphrologie [COVID-19 from the nephrologist's point of view] *Rev Med Suisse.* 2020;16(691-2):842–844. [PubMed] [Google Scholar].
- Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Tracking changes in SARS-CoV-2 spike: evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell.* 2020 Jul 3. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.043>.
- Kuba K, Imai Y, Penninger JM. Angiotensin-converting enzyme 2 in lung diseases. *Curr Opin Pharmacol* 2006;6(3):271 - 6.
- Kuba K, Imai Y, Rao S, Gao H, Guo F, Guan B, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med.* août 2005;11(8):875 - 9.
- Kuhn JH, Li W, Choe H, Farzan M. Angiotensin-converting enzyme 2: a functional receptor for SARS coronavirus. *Cell Mol Life Sci* 2004;61(21):2738 - 43.

### L

- Lauer S.A., Grantz K.H., Bi Q. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med.* 2020;172(9):577–582. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar].
- Les facteurs sociaux et environnementaux considérés à l'origine des faibles taux de COVID-19 en Afrique [Internet]. Regional Office for Africa.OMS. [cité 3 déc 2020]. Disponible sur: <https://www.afro.who.int/fr/news/les-facteurs-sociaux-et-environnementaux-consideres-lorigine-des-faibles-taux-de-covid-19-en>.
- Li W, Su Y-Y, Zhi S-S, Huang J, Zhuang C-L, Bai W-Z, et al. Viral shedding dynamics in asymptomatic and mildly symptomatic patients infected with SARS-CoV-2. *Clin Microbiol Infect.* 2020. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.07.008>.

### M

## Référence bibliographiques

---

- McBride, R., van Zyl, M., & Fielding, B. C. (2014). The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses*, 6(8), 2991–3018.
- Menad Kh et Meralet Z., 2022. Mmoire de master : etude épidémiologique des sujets atteints de SARS-COV-2 à mostaganem
- Mercadier J-J. Une seconde enzyme de conversion de l'angiotensine juste pour le cœur ? médecine/sciences. févr 2003;19(2):141- 3.

### N

- Nal, B., Chan, C., Kien, F., Siu, L., Tse, J., et al. (2005). Differential maturation and subcellular localization of severe acute respiratory syndrome coronavirus surface proteins S, M and E. *The Journal of general virology*, 86(Pt 5), 1423–1434.
- Neuman, B. W., Kiss, G., Kunding, A. H., Bhella, D., Baksh, M. F., et al. (2011). A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *Journal of structural biology*, 174(1), 11–22.
- Nieto-Torres, J. L., DeDiego, M. L., Verdía-Báguena, C., Jimenez-Guardeño, J. M., Regla-Nava, J. A, et al. (2014). Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLoS Pathogens*, 10(5), e1004077.

### O

- Ocaranza MP, Godoy I, Jalil JE, Varas M, Collantes P, Pinto M, et al. Enalapril attenuates downregulation of angiotensin-converting enzyme 2 in the late phase of ventricular dysfunction in myocardial infarcted rat. *Hypertension* 2006;48(4):572- 8.
- OMS | Nouveau coronavirus – Chine [Internet]. WHO. World Health Organization; [cité 2 déc 2020]. Disponible sur: <http://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/fr/>.
- OMS, vaccin contre la COVID-19 <https://www.who.int/fr/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines>.
- Onder G, Rezza G, Brusaferro S. Case-Fatality Rate and Characteristics of Patients Dying in Relation to COVID-19 in Italy [published online ahead of print, 2020 Mar 23]. *JAMA*. 2020;10.1001/jama.2020.4683. doi:10.1001/jama.2020.4683.

### P

## Référence bibliographiques

---

- Pervushin, K., Tan, E., Parthasarathy, K., Lin, X., Jiang, F. L., Yu, D., et al. (2009). Structure and inhibition of the SARS coronavirus envelopeprotein ion channel. *PLoSpathogens*, 5(7), e1000511.
- Promedmail .International Society for InfectiousDiseases (en ligne) page consultée le 07/05/2021.
- Public Health Ontario. COVID-19 – whatwe know so far about... asymptomatic infection and asymptomatic transmission. Toronto, ON: Queen’s Printer for Ontario; 2020 May 22. Availablefrom: <https://www.publichealthontario.ca/en/diseases-and-conditions/infectious-diseases/respiratory-diseases/novel-coronavirus/what-we-know>.

### Q

- Qian G, Yang N, Ma AHY, Wang L, Li G, Chen X, et al. COVID-19 transmission within a family cluster by presymptomatic carriers in China. *Clin Infect Dis*. 2020;

### R

- Ramchand J, Patel SK, Srivastava PM, Farouque O, Burrell LM. Elevated plasma angiotensin converting enzyme 2 activity is an independent predictor of major adverse cardiac events in patients with obstructive coronary artery disease. *PloS One* 2018;13(6):e0198144.
- Recalcati S. Cutaneous manifestations in COVID-19: a first perspective. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2020 Mar 26. doi: 10.1111/jdv.16387. [PubMed].

### S

- Santos RAS, Sampaio WO, Alzamora AC, Motta-Santos D, Alenina N, Bader M, et al. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS axis of the renin-angiotensin system: focus on angiotensin-(1-7). *Physiol Rev* 2018;98(1):505- 53.
- Sheikh, A., Al-Taher, A., Al-Nazawi, M., Al-Mubarak, A. I., & Kandeel, M. (2020). Analysis of preferred codon usage in the coronavirus N genes and their implications for genome evolution and vaccine design. *Journal of virological methods*, 277, 113806.
- Stohlman, S. A., Baric, R. S., Nelson, G. N., Soe, L. H., Welter, L. M., & Deans, R. J. (1988). Specific interaction between coronavirus leader RNA and nucleocapsid protein. *Journal of virology*, 62(11), 4288–4295.
- Sutton D., Fuchs K., D’Alton M., Goffman D. Universal Screening for SARS-CoV-2 in Women Admitted for Delivery. *N Engl J Med*. 2020;382(22):2163–2164. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar].

## Référence bibliographiques

---

- Suzie D. Place des tests sérologiques rapides (TDR, TROD, autotests) dans la stratégie de prise en charge de la maladie COVID-19. :34.

### T

- Takai S, Jin D, Aritomi S, Niinuma K, Miyazaki M. Powerfulvascular protection by combiningcilnidipinewithvalsartan in stroke-prone, spontaneously hypertensive rats. *HypertensRes* 2013;36(4):342–8.
- Tipnis SR, Hooper NM, Hyde R, Karran E, Christie G, Turner AJ. A humanhomolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase. *J BiolChem* 2000;275(43):33238- 43. [5] Choi HS, Kim IJ, Kim CS, Ma SK, Scholey JW, Kim SW, et al. Angiotensin-[1-7] attenuateskidneyinjury in experimentalAlport syndrome. *SciRep* 2020;10(1):4225.
- Touati J., Rico, G ., Habert , P ., Garault , M ., Gaubert, J-Y ., Chagnaud , C ., Varoquaux , A . Nosocomial transmission prevention of SARS-COV-2 using a preoperativechest CT : a monocentricstudyduring the outbreak . *Journal of Hospital Infection* . JULY ,2020 DOI : 10.1016/j.jhin .2020.07.005.
- Traore A., Pot C., Bonvin C. Neurologie et COVID-19. *Rev Med Suisse*. 2020;16(692):947–949. [PubMed] [Google Scholar].

### V

- Vabret A, J. Dina J, Brison E, et al. Coronavirus humains (HCoV). *PatholBiol* 2009 ; 57 : 149–160.
- Vaccin contre la coqueluche. Article consulté en Juin 2022. Disponible sur <https://www.infovac.ch/fr/les-vaccins/par-maladie/coqueluche> .
- Vaccins et vaccination. Article consulté en Juin 2022. Disponible sur : <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/vaccins-et-vaccinations> .

### W

- Walters TE, Kalman JM, Patel SK, Mearns M, Velkoska E, Burrell LM. Angiotensinconverting enzyme 2 activity and human atrial fibrillation: increased plasmaangiotensinconverting enzyme 2 activityisassociatedwith atrial fibrillation and more advancedleft atrial structural remodelling. *Europace* 2017;19(8):1280–7.

## Référence bibliographiques

---

- Wang D., Hu B., Hu C. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus–Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020;323(11):1061–1069. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar].
- Warner FJ, Smith AI, Hooper NM, Turner AJ. Angiotensin-converting enzyme-2: a molecular and cellular perspective. *Cell Mol Life Sci* 2004;61(21):2704–13.
- Wei WE, Li Z, Chiew CJ, Yong SE, Toh MP, Lee VJ. Presymptomatic transmission of SARS-CoV-2 — Singapore, January 23–March 16, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020 Apr 10;69(14):411–5. Available from: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/69/wr/mm6914e1.htm>.
- Weng J (2020) Plant solutions for the Covid-19 pandemic and beyond: historical reflections and future perspectives. *Mol Plant* 13:803–7
- Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized cases of coronavirus disease 2019. *medRxiv*. 8 mars 2020;2020.03.05.20030502.
- Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579(7798):265–269.
- Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020. Feb 24. doi: 10.1001/jama.2020.2648.

### Y

- Yamamuro M, Yoshimura M, Nakayama M, Abe K, Sumida H, Sugiyama S, et al. Aldosterone, but not angiotensin II, reduces angiotensin converting enzyme 2 gene expression levels in cultured neonatal rat cardiomyocytes. *Circ J* 2008;72(8):1346–50.
- Ye Q., Wang B., Mao J. The pathogenesis and treatment of the ‘Cytokine Storm’ in COVID-19. *J Infect*. 2020;80(6):607–613. [Article PMC gratuit] [PubMed] [Google Scholar].
- You, J., Dove, B. K., Enjuanes, L., DeDiego, M. L., Alvarez, E., et al. (2005). Subcellular localization of the severe acute respiratory syndrome coronavirus nucleocapsid protein. *The Journal of general virology*, 86(Pt 12), 3303–3310.

### Z

- Zhang H, Penninger JM, Li Y, Zhong N, Slutsky AS. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and



## Référence bibliographiques

---

potentialtherapeutic target. Intensive Care Med 2020;2020;10.1007/s00134-020-05985-9.

- Zhang T, Wu Q, Zhang Z. Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. *Curr Biol.* 6 avr 2020;30(7):1346-1351.e2.
- Zhao Y, Ma R, Yu X, Li N, Zhao X, Yu J. AHU377+valsartan (LCZ696) modulates renin-angiotensin system (RAS) in the cardiac of females spontaneously hypertensive rats compared with valsartan. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2019;24(5):450-9.
- Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet Lond Engl* 11 mars 2020; pii: S0140-6736(20)30566-3. [2] Fang L, Karakiulakis G, Roth M. Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection? *Lancet Respir Med* 2020 Mar 11. pii: S2213-2600(20)30116-8.
- Zhou P et al., A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin *Nature* 2020(579) 270\_273.
- Zhou et al.; A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin *Nature*, 2020(579)270-273.
- Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020; 382 : 929–36.
- Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N Engl J Med.* 2020;382(12):1177–9. Available from:

# **Annexes**

**Laboratoire Central de l'hôpital de Mostaganem**  
**Fiche Patient**  
**(Étude Génétique de la COVID-19)**

**Informations personnelles**

N° du dossier : .....

Date :    |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|

Nom et Prénom : .....

Sexe :    Homme               Femme   

Date et Lieu de Naissance :   |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| à .....

Origine des parents (wilaya) : .....

Profession : .....

Adresse (Wilaya/commune) : .....

Groupe ABO Rhésus : .....

Fumeur :    OUI               NON   

Service de suivi (service/hôpital) : .....

Médecin traitant : .....

**Informations sur l'infection :**

Date de diagnostic de la maladie :   |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|

Infection au SARS-COV-2 pour la : 1ère fois       2ème fois       3ème fois       4ème fois   

Sérologie COVID : Positif               Négatif               Non réalisé   

Test RT-PCR COVID : Positif               Négatif   

Date du Test RT-PCR : ..... Lieu : .....

Type de prélèvement : Sanguin               Nasopharyngé et oropharyngé               Autre   

**En cas d'infections COVID déjà rencontrée :**

Si Sérologie COVID déjà réalisée : Oui               Non               Date : .....

RT-PCR COVID déjà réalisée : Oui               Non               Date : .....