



Royaume du Maroc

***Ministère de l'Education Nationale, de la Formation
Professionnelle, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche***

UNIVERSITE MOHAMMED V de RABAT

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE RABAT

MEMOIRE DE MASTER

MASTER DE BIOTECHNOLOGIE MEDICALE

OPTION : Biomédicale

Thème

**Enquête de la séro prévalence Covid 19
chez les donneurs de sang dans la région
Marrakech-Safi**

**Présenté par :
Bouzidi Basma**

**Encadré par :
Soraab Nabila**

Promotion : Novembre 2018/2020

Jury de soutenance :

Président : Pr. IBRAHIMI Azzedine, Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat

Encadrante : Pr. SORAA Nabila, Centre Hospitalier Universitaire-Marrakech

Examinatrice : Pr. OUEDGHIRI Mouna, Faculté de Médecine et de Pharmacie-Rabat



“Success is not final ; failure is not fatal : it is the courage to
continue that counts.”

—

Winston S. Churchill



AVANT PROPOS

Le présent travail est réalisé dans le cadre du Master en Biotechnologie Médicale coordonné par Pr. Azzedine Ibrahimi. Il est le fruit d'une collaboration entre le laboratoire de Microbiologie du Centre Hospitalier Universitaire, Marrakech (CHUM) et le Laboratoire MedBiotech à la Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat. Il a été dirigé par Pr. Nabila SORAA au sein de leboratoire de Microbiologie (CHUM).

Remerciements

Je remercie tout d'abord Allah le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude au corps pédagogique du Laboratoire MedBiotech

*J'adresse mes profonds remerciements et mes vives reconnaissances à **Pr. Azzedine IBRAHIMI**, coordinateur du Master « Biotechnologie médicale- Option : Biomédicale », pour son soutien, sa disponibilité, ses efforts, ses encouragements, et pour le temps qu'il a pu consacrer afin d'assurer la formation de notre promotion et pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance. Je lui exprime ma profonde gratitude.*

*Je désire remercier très chaleureusement mon encadrante **Pr. Nabila SORAA**, Chef de laboratoire de Microbiologie au CHUM, pour m'avoir honorée de sa confiance en m'acceptant et en me formant au sein de son équipe. Son écoute attentive et ininterrompue, sa gentillesse, ainsi que ses précieux conseils. Je lui adresse mes plus sincères remerciements. Merci pour l'attention constante avec laquelle vous avez suivi la progression de mon travail malgré vos innombrables occupations.*

*Mes sincères remerciements à Mme **Mouna OUADGHIRI**, professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat (FMPR). Je la remercie infiniment d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Je m'adresse à toute ma famille MEDBIOTECH sans exception, merci pour les moments agréables que nous avons passés ensemble, et bonne chance à vous tous et toutes.

Bien entendus, je remercie très sincèrement tous les membres de l'équipe de service de Microbiologie CHUM. Merci pour l'accueil chaleureux que vous m'avez offert au sein du laboratoire.

Dédicace

Je dédie ce travail :

À L'ÂME DE MON CHER PÈRE

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

Ta bonté, ta tendresse, ton affection et grandeur d'âme.

Puisse ALLAH le Tout Puissant t'accueillir en Son Vaste Paradis et t'accorder Sa Sainte

Miséricorde in'challah.

À MA CHERE MÈRE

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi.

Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours.

Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait.

En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime.

Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

JE VOUS AIME ...

À mon cher frère REDA et ma chère sœur Mounia

Vous êtes la joie de chaque jour, que DIEU protège notre union et exauce vos espoirs. Veuillez accepter cette dédicace comme l'expression de mon fort et inlassable attachement.

À MES CHERS AMIS

Pour les souvenirs du passé, la joie du présent et l'espoir d'avenir, je vous dédie ce travail en vous souhaitant la bénédiction du Bon DIEU dans tous vos pas.

À MES CHERS COLLEGUES DU CHUM

***Pour les moments agréables et inoubliables que nous avons passés ensemble, pour votre présence, votre soutien, votre encouragement perpétuel,
Pour vos précieux conseils et vos aides à la réalisation de ce travail.***

RESUME

Fin décembre 2019, une épidémie sans précédent de maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) causée par le coronavirus SRAS 2 (SARS-CoV-2) à Wuhan est devenue l'urgence sanitaire la plus difficile. Des tests sérologiques précis et à grande échelle qui incluent la détection d'anticorps neutralisants sont essentiels pour évaluer la propagation de l'infection dans la communauté. Dans ce contexte, le Ministère de Santé au Maroc, a élaboré un programme d'évaluation de la séroprévalence de SRAS-CoV-2 chez des donneurs de sang dans tous les régions du Maroc, l'objectif principal de cette étude est d'estimer l'incidence cumulative de l'infection par (SRAS-CoV-2) chez les donneurs de sang, et évaluer sa circulation dans la communauté au mi-février début d'aout, dans la région Marrakech-Safi. Au total, 6372 échantillons, sous forme de sérum ou sang veineux ont été collectés du Centre Régionale de transfusion Sanguine Marrakech. L'analyse sérologique a été effectuée au laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalier Universitaire, Marrakech. Sur les 6372 participants inclus dans cette étude, 79 était séropositifs au Covid 19 IgG soit une prévalence de 1,24%. Les valeurs de séroprévalence ne différaient pas significativement entre les groupes d'âge (mais étaient légèrement plus élevées chez les donneurs moins de 30 ans), et entre les hommes et les femmes (63,3 % contre 36,7 % ; P=0347). La proportion de séropositivité était similaire chez les donneurs du groupe sanguin A+ et O+ (40,50%). De plus, dans le groupe d'échantillons de plasma stockés datant du 14 février au 02 mars, nous avons trouvé environ 2% d'échantillons avec des preuves de SRAS-CoV-2 IgG, suggérant une circulation antérieure inaperçue du virus dans la population avant la déclaration du premier cas au Maroc.

Les enquêtes sérologiques sont le meilleur outil pour déterminer la propagation d'une maladie infectieuse, en particulier en présence de cas asymptomatiques. Des investigations supplémentaires sont nécessaires pour déterminer le rôle de l'anticorps neutralisant dans la protection contre l'infection par le SRAS-CoV-2 ainsi que le potentiel thérapeutique du plasma hyper immun.

Mots clés : SRAS-CoV-2, Covid 19, séroprévalence, donneurs de sang.

ABSTRACT

At the end of December 2019, an unprecedented 2019 coronavirus disease (COVID-19) outbreak caused by the SARS 2 coronavirus (SARS-CoV-2) in Wuhan became the most difficult health emergency. Accurate and large-scale serological tests that include the detection of neutralizing antibodies are essential to assess the spread of infection in the community. In this context, the Ministry of Health in Morocco has developed a program to assess the seroprevalence of SARS-CoV-2 in blood donors in all regions of Morocco, the main objective of this study is to estimate the cumulative incidence of infection with (SARS-CoV-2) in blood donors, and assess its circulation in the community in mid-February and early August, in Marrakech-Safi region. A total of 6,372 samples, in the form of serum or venous blood were collected from the Marrakech Regional Blood Transfusion Center. The serological analysis was carried out in the microbiology laboratory of the University Hospital Center, Marrakech. Of the 6,372 participants included in this study, 79 were seropositive to Covid 19 IgG, a prevalence of 1.24%. Seroprevalence values did not differ significantly between age groups (but were slightly higher in donors under 30 years), and between males and females (63.3% vs. 36.7% ; $P = 0.347$). The proportion of seropositivity was similar in donors of the A + and O + blood group (40.50%). plus, in the group of stored plasma samples dating from February 14 to March 02, we found approximately 2% of samples with evidence of SARS-CoV-2 IgG, suggesting an undetected prior circulation of the virus in the population before the declaration of the first case in Morocco.

Serological surveys are the best tool to determine the spread of an infectious disease, especially in the presence of asymptomatic cases. Further investigations are needed to determine the role of neutralizing antibody in protecting against SARS-CoV-2 infection as well as the therapeutic potential of hyperimmune plasma.

Keywords : SARS-CoV-2, Covid 19, seroprevalence, blood donors.

ملخص

في نهاية ديسمبر 2019، أصبح تفشي مرض فيروس كورونا غير المسبوق الناجم عن فيروس كورونا المستجد (كوفيد) في ووهان أصعب حالة صحية طارئة. تعتبر الاختبارات المصلية الدقيقة والواسعة النطاق التي تشمل الكشف عن الأجسام المضادة المعادلة ضرورية لتقييم انتشار العدوى في المجتمع. في هذا السياق، وضعت وزارة الصحة المغربية برنامجاً لتقييم الانتشار المصلي لفيروس السارس-2 في المتبرعين بالدم في جميع مناطق المغرب، والهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقدير الحدوث التراكمي للإصابة بكوفيد تسعة عشر في المتبرعين بالدم، وتقييم الدورة في المجتمع في منتصف فبراير وأوائل غشت، في منطقة مراكش أسفي. تم جمع 6,372 عينة على شكل مصل دم أو دم وريدي من مركز مراكش الجهوي لنقل الدم. تم إجراء التحليل المصلي في مختبر الأحياء الدقيقة في مركز المستشفى الجامعي بمراكش. من بين 6372 مشاركاً مشمولين في هذه الدراسة كان 79 منهم إيجابيين أي بنسبة انتشار بلغت 1.24%. لم تختلف قيم الانتشار المصلي بشكل كبير بين الفئات العمرية (لكنها كانت أعلى قليلاً في المتبرعين تحت سن 30)، وبين الذكور والإناث (63.3% مقابل 36.7%). وكانت نسبة إيجابية المصل مماثلة في المتبرعين لفصيلة الدم ألف إيجابي و او إيجابي 40.50%.

في مجموعة عينات البلازما المخزنة التي يرجع تاريخها إلى الفترة من 14 فبراير إلى 02 مارس، وجدنا ما يقرب من 2% من العينات تحمل مضادات اجسام فيروس كورونا المستجد، مما يشير إلى تداول سابق للفيروس غير مكتشف في السكان من قبل إعلان الحالة الأولى بالمغرب.

الدراسات السيولوجية هي أفضل وسيلة لتحديد مدى انتشار مرض معدي، خاصة في حالة وجود حالات بدون أعراض. هناك حاجة إلى مزيد من التحقيقات لتحديد دور الجسم المضاد المعادل في الحماية من عدوى فيروس كورونا المستجد. بالإضافة إلى الإمكانيات العلاجية للبلازما شديدة المناعة.

الكلمات المفتاحية، الانتشار المصلي، المتبرعون بالدم، كوفيد تسعة عشر، سارس كوف 2

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique de la taxonomie des Coronaviridae.....	21
Figure 2: Hôtes et conséquences de l'infection humaine par le CoV.	22
Figure 3 : Structure du SRAS-CoV-2. (A) Illustration du virion SARS-CoV-2 créé aux Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (B) Représentation schématique de la structure du SARS-CoV-2. (C) Une image au microscope électronique d'une fine section de SRAS.	27
Figure 4: (A) Structure de la particule, du virion et (B) de l'organisation génomique du SRAS-CoV-2	27
Figure 5: Cycle de réplication du SRAS-CoV-2.	31
Figure 6: Evolution des nouveaux cas de Covid-19 dans les 10 pays du monde les plus affectés (nombre de cas), au 6 novembre 2020	34
Figure 7: Evolution des décès du Covid-19 dans le monde, globale et par continent, au 5 novembre 2020	35
Figure 8: Répartition géographique du nombre cumulé de cas de COVID-19 signalés pour 100 000 habitants, dans le monde, sur les 14 derniers jours, au 5 novembre 2020	36
Figure 9: L'évolution de la pandémie du coronavirus par jour au Maroc	37
Figure 10: Pourcentage des cas positifs par région.....	38
Figure 11: Les symptômes les plus courants du COVID-19	42
Figure 12: Test immunologique à flux latéral pour la détection des IgM et IgG du SRAS-CoV-2.	47
Figure 13: Positions des ensembles d'amorces-sondes qRT-PCR listées par l'OMS.....	49
Figure 14: A. Représentation schématique de la structure de la protéine SARS-CoV-2 Spike, B. Illustration de la localisation du site de clivage de la furine (PRRARS) dans SARS-CoV-2...	54
Figure 15: Abbott SRAS-CoV-2 IgG Reagent Kit.....	63
Figure 16: Abbott ARCHITECT i2000SR.....	64
Figure 17: Répartition des échantillons selon le type d'étude.....	67
Figure 18: Distribution géographique des participants.....	67
Figure 19: Répartition des séropositifs Covid 19 IgG selon la période de don	71

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1: Nombre de cas de Covid-19 par continent au 5 novembre 2020 (source : Ecdc.Europa.eu / Ined.fr).....</i>	33
<i>Tableau 2: Les 10 pays recensant le plus grand nombre de cas de Covid-19 dans le monde au 6 novembre 2020.</i>	35
<i>Tableau 3: Coronavirus. Répartition des cas par Région le 06-11-2020</i>	38
<i>Tableau 4: tableau d'évolution du Coronavirus au Maroc pdt les 30 derniers jours</i>	39
<i>Tableau 5: Prévalence des objectifs atteints.</i>	66
<i>Tableau 6: Séroprévalence du Covid 19 IgG</i>	68
<i>Tableau 7: Répartition des séropositifs Covid 19 IgG selon le type d'étude.....</i>	68
<i>Tableau 8: Répartition des séropositifs Covid 19 IgG selon le sexe</i>	68
<i>Tableau 9: Répartition des séropositifs Covid 19 IgG selon le sexe et type d'étude</i>	69
<i>Tableau 10: Répartition des séropositifs Covid 19 selon l'âge.....</i>	69
<i>Tableau 11: Prévalence des séropositifs Covid 19 IgG selon l'âge.....</i>	69
<i>Tableau 12: Répartition des séropositifs Covid 19 selon le groupe sanguin</i>	70

LISTE DES ABREVIATIONS

A

ACC : American College of Cardiology

ACE2 : Enzyme de conversion de l'angiotensine-2

ACE-Ig : Enzyme de conversion de l'angiotensine Immunoglobuline

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNc : Acide désoxyribonucléique complémentaire

Ag : Antigène

AHA : American Heart Association

Ang : Antigène

APN : Acide peptidique nucléique

ARA : Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine

ARN : Acide ribonucléique

ARNm : ARN messenger

B

BCoV : Coronavirus bovin

BLAST : Basic Local Alignment Search Tool

C

C° : Degré Celsius

CDC : Centers for Disease Control and Prevention

CMIA : Technologie de dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence

CoV : Coronavirus

COVID-19 : La maladie à coronavirus 2019

CQ : Chloroquine

CRISPR : Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats

Ct : Seuil de cycle

CTD : Domaine C-terminal

E

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ERGIC : ER-Golgi

F

FCoV : Coronavirus félin

FDA : Food and Drug Administration

fg : Frigorie

FP : Peptide de fusion

H

Hab : Habitants

HCK : Hydroxychloroquine

HCoV : Coronavirus humaine

HCoV-NL63 : Coronavirus humain NL63

HE : Hémagglutinine-estérase

Hel : Hélicase

HFSA : Heart Failure Society of America

HKU4 : Coronavirus de chauve-souris

HRP : Horseradish Peroxidase

I

IBV : Bronchite infectieuse aviaire

IFN : Antagoniste des interférons

IgG : Immunoglobuline G

IgM : Immunoglobuline M

IL-6 : Interleukine 6

IRSR : Inhibiteurs du système rénine-angiotensine

Km : Kilomètre

LAMP : l'amplification isotherme médiée par boucle

LDH : Lactate déshydrogénase

M

M : Mètre

MERS-CoV : Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient

MHV : Coronavirus de l'hépatite de la souris

Min : Minute

ml : Millilitre

MT-PCR : Multiplex-tandem PCR

N

nCoV : Nouveau coronavirus

nM : Nanomètre

nm : Nanomètre

Nsps : Non-Structural Proteins

NTD : Domaine N-terminal

O

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ORF : Open Reading Frame

P

PcMNPs : Groups (PC)-coated magnetic nanoparticles

PCR : Polymérase Chaîne Réaction

PdCV : Deltacoronavirus porcin

PIF : Péritonite Infectieuse Féline

POC : Test au point de service

pp1a : Polyprotéines 1a

PRCV : Coronavirus respiratoire porcin

R

RAS : Système rénine-angiotensine

RBD : Receptor Binding Domain

RBM : Receptor Binding Motif

RCA : Amplification en cercle roulant

rhACE2 : Forme soluble recombinante d'ACE2 humaine

RT-LAMP : Amplification isotherme médiée par boucle de transcription inverse

RT-PCR : Reverse Transcriptase PCR

RT-qPCR : Reverse Transcriptase Quantitative PCR

S

SARS-CoV-2 : coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère

SDRA : Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë

SpO2 : Saturation pulsée en oxygène

SR : Sérine et Arginine

SRAS-CoV : Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère

T

TCID50 : La dose infectieuse de 50 % sur culture tissulaire

TDM : Tomodensitométrie thoracique

TGEV : Coronavirus de la gastro-entérite transmissible porcine

TMA : Amplification Médiée par la Transcription

TMPRSS2 : Transmembrane Protéase Serine 2

USPPI : Urgence de Santé Publique de Portée Internationale

U

URL : Unités relatives de lumière

USPPI : Urgence de santé publique de portée internationale

V

VHC : Humain Coronavirus

VHH : Anticorps à domaine unique

VS : Vitesse de Sédimentation des érythrocytes

TABLE DES MATIERES

AVANT PROPOS	1
Remerciements	2
Dédicace	3
RESUME	5
ABSTRACT	6
ملخص	7
LISTE DES FIGURES.....	8
LISTE DES TABLEAUX	9
LISTE DES ABREVIATIONS	10
INTRODUCTION.....	17
<i>Volet I :</i>	19
I. L'ESPECE CORONAVIRUS (CoV)	20
1. Généralités.....	20
1.1. Historique :.....	20
1.2. Classification et taxonomie :.....	20
1.3. Origine :	21
2. Trois types importants de coronavirus qui infectent les humains :	23
2.1. Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV)	23
2.2. Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV).....	24
2.3. Syndrome respiratoire aigu sévère SRAS-CoV-2.....	25
II. LE COVID 19 : SYNDROME RESPIRATOIRE AIGU SEVERE SRAS-COV-2...	25
1. Histoire :.....	25
2. Virologie.....	26
2.1. Structure :.....	26
2.2. Génome :.....	27

2.3. Cycle de vie et réplication du SRAS-CoV-2	30
Cycle de réplication	32
3. Epidémiologie :	33
3.1. Au monde :	33
3.2. Au Maroc :	37
4. Transmission :	40
4.1. Transmission inter-espèce :	40
4.2. Transmission interhumaine :	41
5. Présentations cliniques :	42
6. Diagnostic.....	44
6.1. Tests immunologiques :	44
6.2. Techniques d'amplification :	48
7. Traitement	53
7.1. Inhibiteurs de l'interaction Spike et ACE2.....	53
7.2. Anticorps neutralisants.....	55
7.3. Thérapie immunitaire.....	55
7.4. Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACEI) et antagonistes des récepteurs de l'angiotensine (ARA)	56
7.5. Médicaments antiviraux.....	56
8. Vaccin.....	58
9. La prévention.....	58
Volet II :	
Expérimenta	60
Objectifs d'étude	61
MATERIELS ET METHODES	62
RESULTATS	66
DISCUSSION	72

CONCLUSION.....	75
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	77

INTRODUCTION

La maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) est une nouvelle maladie respiratoire causée par le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2), un nouveau *Sarbecovirus* qui a émergé de Wuhan, en Chine, fin 2019. Sa propagation a été sans précédent en termes de vitesse et d'impact, constituant une urgence de santé publique à portée internationale, et contribuant à une perturbation socio-économique généralisée.

Les coronavirus n'étaient pas considérés comme hautement pathogènes pour l'homme avant le début du 21e siècle. Par la suite, deux HCoV (coronavirus humains) hautement pathogènes, dont le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) et le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV), émergeant de réservoirs animaux, ont conduit à des épidémies mondiales de pneumonie mortelle chez l'homme avec une morbidité et une mortalité élevées. En décembre 2019, sept ans après l'épidémie de MERS, le troisième VHC pathogène est apparu à Wuhan, la capitale de la province du Hubei en Chine, provoquant une pneumonie grave.

Considéré comme des agents représentant une grande menace pour la santé publique, une alerte épidémiologique a été placée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et la pandémie mondiale du coronavirus-19 (COVID-19) a été déclarée le 11 mars 2020. Il s'est propagé dans tous les régions du monde, avec 48 millions de cas et plus de 1,2 millions de décès. Au Maroc, le ministère de la Santé a rapporté, le 06 novembre, plus de 246349 cas d'infections confirmés et plus de 4127 décès par le coronavirus (CoV).

Les symptômes du COVID-19 vont de l'infection asymptomatique au syndrome de détresse respiratoire aiguë et à la mort. L'interruption de sa transmission pour éviter une transmission communautaire généralisée est essentielle car ses effets vont au-delà du nombre de cas et de décès de COVID-19 et affectent la capacité du système de santé à fournir d'autres services essentiels.

La plupart des rapports de cas confirmés reposent sur des tests basés sur la réaction en chaîne par polymérase de patients symptomatiques. Ces estimations des cas confirmés ne comprennent pas les personnes qui se sont rétablies d'une infection, avec des symptômes légers ou inexistantes, et les personnes avec des symptômes qui n'ont pas été testées en raison de la disponibilité limitée des tests. La pandémie de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) a révélé l'importance

mondiale de tests de diagnostic robustes pour différencier le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2) des autres infections respiratoires de routine et guider une prise en charge clinique appropriée.

Des tests sérologiques précis et à grande échelle qui incluent la détection d'anticorps neutralisants sont essentiels pour évaluer la propagation de l'infection dans la communauté, informer les efforts de confinement de la santé publique et identifier les donneurs pour les essais de thérapie plasmatique de convalescence.

Dans cette optique, et pour contribuer à la diminution de l'ampleur de cette problématique, le Ministère de Santé au Maroc, a élaboré un programme d'évaluation de la séroprévalence de SRAS-CoV-2 chez des donneurs de sang dans tous les régions du Maroc.

La présente étude s'inclut dans ce programme et se propose de faire cette évaluation chez les donneurs de sang de la région Marrakech-Safi, Maroc.

Afin de cerner le sujet de cette étude, ce mémoire est subdivisé en trois volets distincts :

Dans le premier nous présenterons les connaissances actuelles sur l'origine l'évolution, l'épidémiologie et la pathogenèse du SRAS-CoV-2, en soulignant ses caractéristiques et sa diversité génétique par rapport aux coronavirus précédents.

Dans le deuxième Nous avons effectué des tests sérologiques des donneurs de sang volontaires asymptomatiques dans la région Marrakech-Asfi dans la phase précoce de l'épidémie pour estimer l'incidence cumulative de l'infection par le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2), et évaluer sa circulation dans la communauté au mi-février début d'aout.

Dans le troisième et dernier volet, nous nous sommes demandé si la distribution des anticorps neutralisant le SRAS-CoV-2 dans la population pouvait être influencée par des paramètres démographiques ou biologiques tels que l'âge, le sexe ou le groupe sanguin et les identifiés comme des facteurs aggravant le pronostic de la maladie.

Volet I :
Bibliographie

I. L'ESPECE CORONAVIRUS (CoV)

1. Généralités

1.1. Historique :

Les coronavirus (CoV) sont un groupe de virus hautement enveloppés que l'on trouve diversement chez l'homme et la faune. Avec leur taux de mutation et leur pouvoir infectieux élevés, les CoV sont des agents pathogènes zoonotiques importants qui peuvent infecter les animaux (Chan et al., 2013 ; Zumla et al., 2016) et les humains, conduisant à 5 à 10% des syndromes respiratoires aigus (Chen et al., 2020). En plus d'infecter une variété de vertébrés (tels que les porcs et les poulets), six espèces ont été identifiées comme causant des maladies chez l'homme (Fung et Liu., 2019). Ils sont connus pour infecter les systèmes respiratoire, gastro-intestinal, hépatique et neurologique avec un large éventail de caractéristiques cliniques allant de l'évolution asymptomatique à une maladie grave nécessitant une hospitalisation en unité de soins intensifs (Fung et Liu., 2019 ; Hassan et al., 2020) Les premiers coronavirus humains (HCoV), HCoV-229E et OC43, reconnus comme étant des pathogènes respiratoires importants, ont été identifiés dans les années 1960 (Tyrrell et Bynoe., 1965 ; Woo et al., 2010). Cependant, on suppose que la première maladie liée au coronavirus enregistrée était la péritonite infectieuse féline (PIF) en 1912 (Scott, 1999). La morphologie « corona » ou « couronne » de ces virus conduit à choisir le nom de « coronavirus », en 1968 (Hozhabri et al., 2020).

1.2. Classification et taxonomie :

Selon le Comité international de taxonomie des virus, les CoV sont classés dans l'ordre des Nidovirales, une famille de Coronaviridae et une sous-famille de Coronavirinae (Fehr et Perlman, 2015). Sur la base de preuves sérologiques antérieures et génomiques récentes, la famille des Coronaviridae comprend deux sous-familles : la sous-famille Orthocoronavirinae et la sous-famille Torovirinae (Figure 1) (Woo et al., 2010 ; Ashour et al., 2020). La sous-famille des Orthocoronavirinae comprend quatre genres : Alpha coronavirus, Beta coronavirus, Gamma coronavirus et Delta coronavirus (Woo et al., 2010 ; Woo et al., 2012 ; Cui et al., 2019). Les alpha et bêtacoronavirus infectent les mammifères, les gammacoronavirus infectent les espèces aviaires et les deltacoronavirus infectent à la fois les espèces mammifères et aviaires. Les alphacoronavirus représentatifs comprennent le coronavirus humain NL63 (HCoV-NL63),

le coronavirus de la gastro-entérite transmissible porcine (TGEV), le PEDV et le coronavirus respiratoire porcin (PRCV). Les bêtacoronavirus représentatifs comprennent le SRAS-CoV, le MERS-CoV, le coronavirus de chauve-souris HKU4, le coronavirus de l'hépatite de la souris (MHV), le coronavirus bovin (BCoV) et le coronavirus humain OC43. Les gamma et deltacoronavirus représentatifs comprennent respectivement le coronavirus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV) et le deltacoronavirus porcin (PdCV) (Hozhabri et al., 2020).

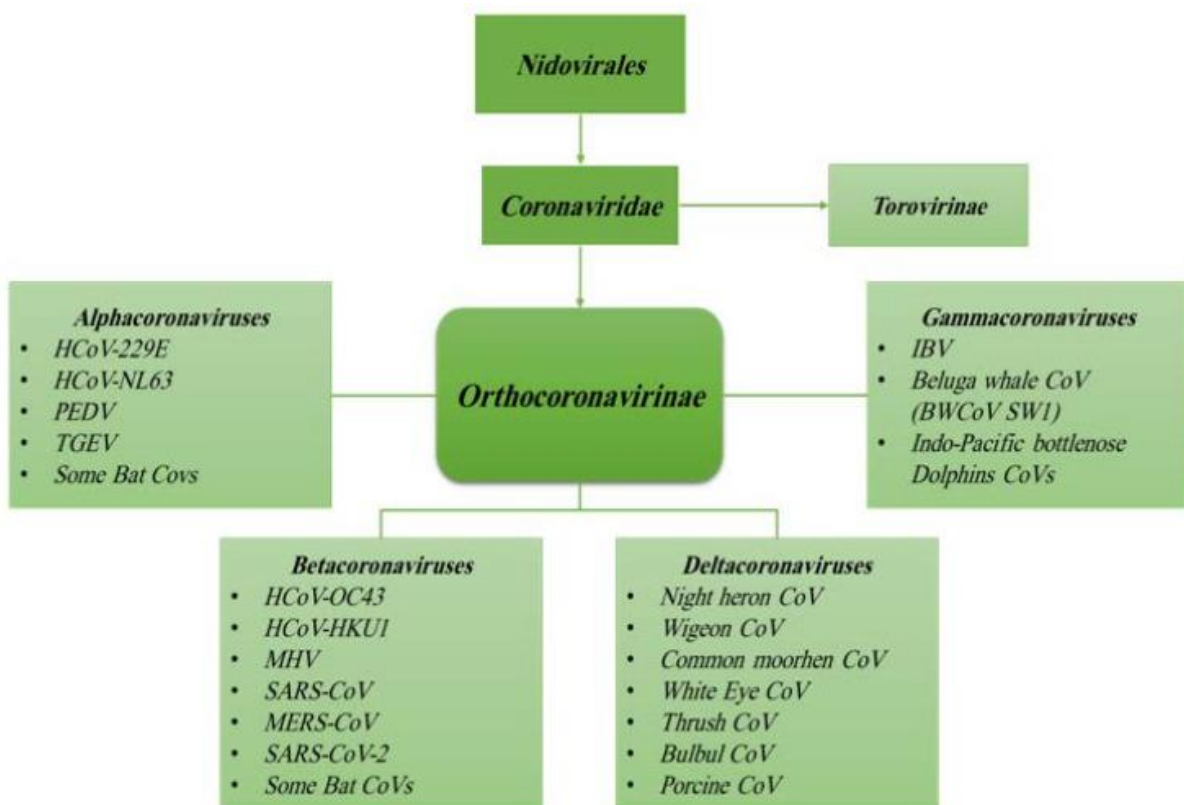


Figure 1 : Représentation schématique de la taxonomie des Coronaviridae.

1.3. Origine :

Les CoV peuvent être isolés à partir de différentes espèces animales, y compris les oiseaux, le bétail et les mammifères tels que les chameaux, les chauves-souris, les civettes de palmiers masquées, les souris, les chiens et les chats (Drexler et al., 2010 ; Lu et al., 2020). Les CoV animaux sont connus pour provoquer des maladies aiguës chez plusieurs animaux (Peiris et al., 2003 ; Yin et al., 2018), ces derniers, peuvent jouer un rôle important en tant qu'hôtes intermédiaires qui permettent la transmission du virus d'une espèce à l'homme (Cui et al.,

2019). Les genres *Gamma* - et *Deltacoronavirus* infectent les oiseaux, mais certains d'entre eux peuvent également infecter les mammifères (Woo et al., 2012).

D'autre part, les *virus alpha* et *bétacoronavirus* n'infectent que les mammifères et provoquent généralement des maladies respiratoires chez l'homme ; parmi celles-ci, les souches 229E, OC43, HKU1 et NL63 sont les plus répandues infectant les jeunes enfants, les nourrissons ainsi que les personnes âgées (Forni et al., 2017 ; Singhal., 2019 ; Su et al., 2016) (Hozhabri et al., 2020).

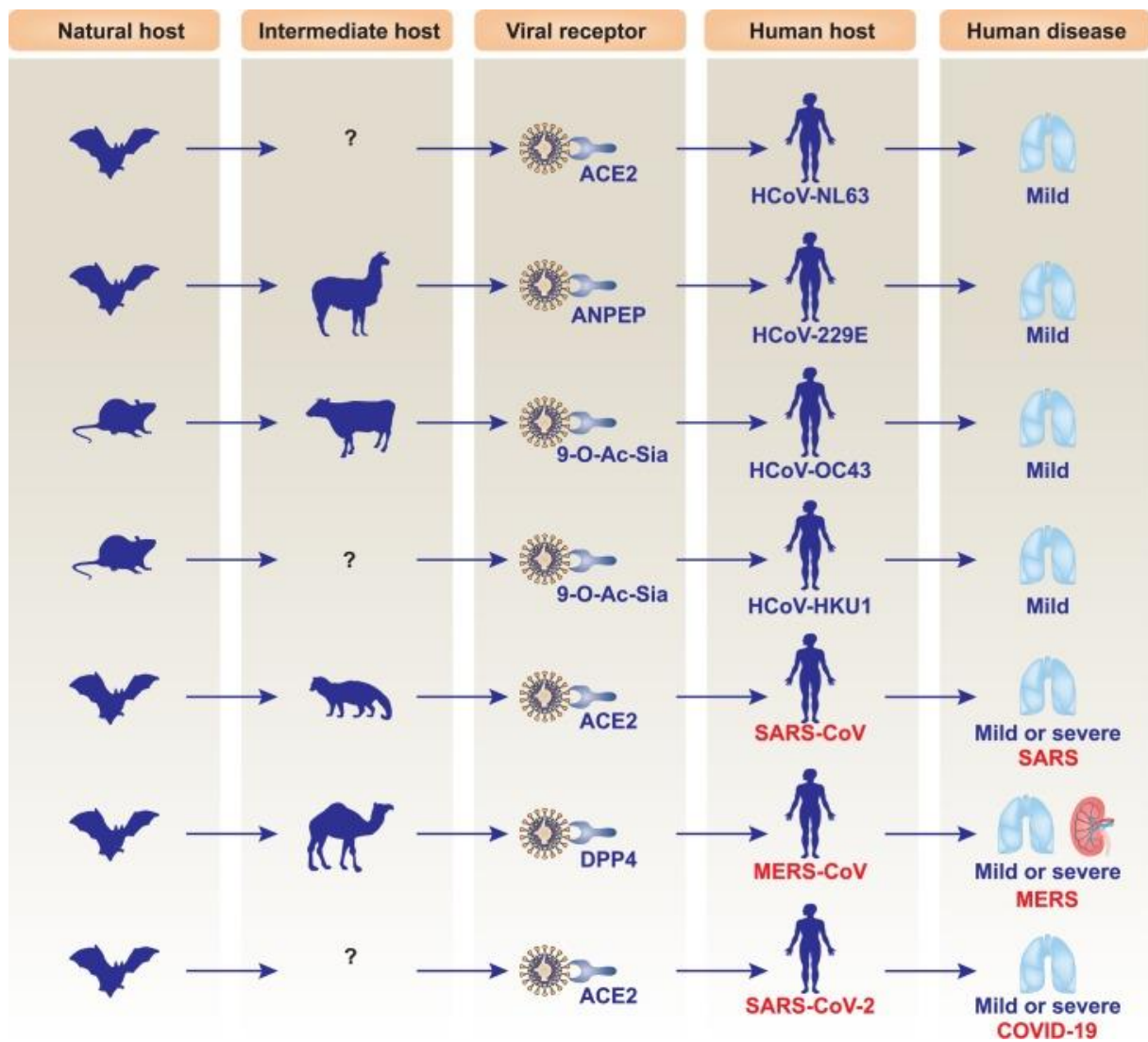


Figure 2: Hôtes et conséquences de l'infection humaine par le CoV.

2. Trois types importants de coronavirus qui infectent les humains :

2.1. Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV)

Le SRAS-CoV a été la première maladie infectieuse originaire de la province du Guangdong, dans le sud de la Chine, en novembre 2002, puis s'est propagée dans le monde entier (Booth et al., 2003 ; Dwoosh et al., 2003 ; Lee et al., 2003 ; Tsang et al., 2003 ; Weiss et Leibowitz, 2011 ; OMS, 2003). Ce CoV aigu et souvent grave s'est propagé par des gouttelettes en suspension dans l'air et par des fomites (Donnelly et al., 2003), qui ont infecté près de 8 000 personnes avec 778 décès (OMS, 2003) avant l'arrêt de l'épisode. Selon les analyses phylogénétiques, il a été placé dans la branche précoce de la catégorie des bêtacoronavirus et le genre comprend le MHV (Snijder et al., 2003 ; Zhu et Chen., 2004). Les patients infectés par le SRAS-CoV présentaient de la fièvre, des maux de gorge, une toux non productive et une myalgie dans la première phase de la maladie. Dans la deuxième phase, la dyspnée, l'hypoxie et la diarrhée avec fièvre persistante sont devenues plus importantes, suivies de graves lésions pulmonaires. Les décès sont survenus à partir du 4^e jour et la gravité de la maladie augmentait avec l'âge, avec une mortalité de 50% pour les patients de plus de 60 ans (Booth et al., 2003 ; Lee et al., 2003 ; Tsui et al., 2003).

Au départ, il a été suggéré que les civettes des palmiers de l'Himalaya (*Paguma larvata*) et les chiens viverrins (*Nyctereutes procyonoides*) soient des sources possibles d'infections humaines (Guan et al., 2003). Mais les civettes à l'état sauvage ne présentaient aucune preuve d'infection par le SRAS-CoV et la découverte de coronavirus de chauve-souris de type SRAS avec une identité de séquence d'environ 90% avec le SRAS-CoV chez des chauves-souris chinoises (*Rhinolophus sinicus*) suggère que cette espèce ou une espèce apparentée de chauve-souris est probablement à l'origine du SRAS-CoV (Lau et al., 2005 ; Li et al., 2005). Au début, les poumons des humains infectés contenaient des membranes hyalines, des thrombus de petits vaisseaux, un œdème, des exsudats de fibrine, une perte et une desquamation de pneumocytes et un infiltrat cellulaire mixte de lymphocytes. Considérant que, à des phases ultérieures, une pneumopathie et une consolidation avec hyperplasie pneumocytaire de type II, métaplasie épidermoïde et bronchiolite obiliterans ont été observées (Beijing Group, 2003 ; Cameron et al., 2007 ; Wong et al., 2004) (Mohapatra et al., 2020).

2.2. Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV)

La nouvelle infection mortelle à coronavirus MERS a été identifiée pour la première fois à Djeddah, en Arabie Saoudite en juin 2012 (Bauerfeind et al., 2016 ; Zaki et al., 2012). Le cas a été remarqué chez un homme admis à l'hôpital avec une pneumonie et une lésion rénale aiguë. Un virus similaire avec une identité de 99,5% a été signalé au Qatar en septembre 2012, qui s'était rendu en Arabie saoudite avant que la progression de la maladie ne s'aggrave (Wise, 2012). Depuis lors, près de 2500 infections humaines confirmées ont été signalées dans 27 pays avec un taux de mortalité supérieur à 30%. La recherche virologique a révélé que cette infection était due à des chameaux dromadaires (*Camelus dromedarius*), qui infectent les voies respiratoires humaines (Al - Tawfiq, 2013 ; Azhar et al., 2014). Tous les cas associés ont été signalés au Moyen-Orient, en Asie de l'Est, en Afrique du Nord, en Europe et aux États-Unis (OMS, 2018).

Ce nouveau virus zoonotique est responsable du syndrome respiratoire aigu humain et les dromadaires d'Afrique de l'Est et de la péninsule arabique ne sont que l'hôte animal confirmé avec le récepteur DPP4 (Conzade et al., 2018 ; Falzarano et al., 2017 ; Miguel et al. 2017 ; Perera et al., 2013 ; Ramadan & Shaib, 2019 ; Reusken, Haagmans, et al., 2013). On pense que les humains acquièrent le MERS - CoV par contact avec des chameaux, des produits à base de chameaux et des consommations (Azhar et al., 2019). Ce virus est étroitement lié aux coronavirus des chauves-souris, ce qui suggère que les chauves-souris pourraient être le réservoir naturel possible (Ramadan et Shaib, 2019), mais pas encore non confirmée. De plus, aucun vaccin n'est disponible pour le MERS-CoV jusqu'à ce jour. Les données épidémiologiques et de séquence virale suggèrent que les chameaux sont le principal responsable de la transmission du virus aux humains (Azhar et al., 2014 ; Azhar, Hashem, et al., 2014).

La viande de chameau est un aliment courant et une source importante de nutrition pour les habitants du Moyen-Orient et des pays africains. Gardant à l'esprit, El - Duah et al., 2019 ont signalé la transmissibilité de ce virus à d'autres espèces d'élevage domestique. Aucun ARN viral ou anticorps contre le MERS-CoV (chauves-souris ghanéennes) n'a été observé chez aucune de ces espèces de bétail testées. Par conséquent, les bovins, les chèvres, les ânes, les moutons et les porcs ne sont probablement pas des hôtes de coronavirus de classe 2c. Les chameaux du Soudan étaient riches en anticorps MERS-CoV, mais aucune infection n'a été observée chez les

chameliers, d'autres animaux d'élevage ou des chauves-souris (Frag et al., 2019). Kandeil et coll., 2019 ont mené des études de surveillance sur des chameaux du Moyen-Orient et d'Afrique en collectant 4 027 écouvillons nasaux et 3 267 échantillons de sérum pour élucider l'infection et la transmission du MERS-CoV. Selon eux, l'ARN et les anticorps du MERS - CoV ont été détectés dans des échantillons d'écouvillons nasaux prélevés en Tunisie, au Sénégal, en Égypte et en Arabie saoudite. Lau et al., 2020 ont signalé la présence d'anticorps MERS-CoV chez des chameaux de Bactriane et des chameaux hybrides à Dubaï, aux Émirats arabes unis. Dans cette étude, les échantillons de sérum de chameau de Bactriane prélevés au Xinjiang ont été testés négatifs pour les anticorps MERS-CoV.

Les chameaux et les chauves-souris ont été identifiés comme la source potentielle du virus du MERS-CoV. Le rôle du gène de la protéine de pointe (S) dans l'attachement du virus aux cellules hôtes a été examiné (Sohrab & Azhar, 2019 ; Zumla et al., 2016), qui sera très utile pour concevoir les composés thérapeutiques et les vaccins pour prévenir la maladie MERS-CoV. Les modalités thérapeutiques à base d'anticorps ont fait l'objet d'une attention particulière pour le traitement de nombreuses maladies (Hu et al., 2019 ; Qiu et al., 2014 ; Zhu et al., 2006). Sur cette base, Wang et al., 2019 ont rapporté la génération de protéines de fusion bispécifiques anticorps-peptide à usage clinique. L'efficacité d'un vaccin ChAdOx1 MERS chez les dromadaires (séronégatif et séropositif) a été étudiée par Alharbi et al., 2019. De l'étude, il a été clair que les réponses anticorps chez les chameaux séropositifs étaient améliorées en utilisant une seule dose de ce vaccin (Mohapatra et al., 2020).

2.3. Syndrome respiratoire aigu sévère SRAS-CoV-2

(Voir chapitre suivant)

II. LE COVID 19 : SYNDROME RESPIRATOIRE AIGU SEVERE SRAS-COV-2

1. Histoire :

Un nouveau bêta-coronavirus récemment identifié, le coronavirus-2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2), est l'agent étiologique de la maladie à coronavirus-2019 (COVID-19). Le COVID-19 est apparu en décembre 2019 dans la ville de Wuhan, en Chine, et s'est rapidement propagé au reste du monde. Avec un taux de mortalité de 4 à 12%, le COVID-19 est une menace émergente pour la santé publique mondiale. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), la Chine a signalé un groupe de cas de pneumonie à Wuhan, dans la province

du Hubei, le 31 décembre 2019. Il a été signalé qu'aucun décès n'était associé à cette épidémie de pneumonie, qui concernait 44 patients au 4 janvier 2020. Le 5 janvier 2020, l'OMS a annoncé que l'épidémie de pneumonie était due à un nouveau virus originaire du marché Huanan Seafood à Wuhan, en Chine, le 12 janvier 2020, le virus a été confirmé comme un nouveau coronavirus (nCoV).

Le lendemain, l'OMS a annoncé qu'il y avait une transmission interhumaine limitée du nCoV, principalement par les membres de la famille, et a suggéré la possibilité d'une flambée plus large. Le 30 janvier 2020, l'OMS a déclaré que le 2019-nCoV était une urgence de santé publique de portée internationale (USPPI). Le 11 février 2020, le 2019 - nCoV a été nommé coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS - CoV - 2) par le groupe d'étude sur les coronavirus du Comité international de taxonomie des virus et l'OMS a officiellement nommé la maladie causée par le 2019 - nCoV comme maladie à coronavirus (COVID-19). Un mois plus tard, le 11 mars 2020, l'OMS a déclaré le COVID-19 pandémie, et l'infection par le SRAS-CoV-2 a depuis atteint le statut de pandémie dans le monde entier.

2. Virologie

2.1. Structure :

Comme les autres coronavirus, le SRAS-CoV-2 est un virus enveloppé avec des virions à peu près sphériques ou modérément pléomorphes d'environ 60 à 140 nm de diamètre (Figure 3) (Yan et al., 2020). La membrane virale contient la glycoprotéine de pointe (S) qui forme les peplomères à la surface du virion, donnant au virus sa morphologie « corona » - ou en forme de couronne au microscope électronique. La glycoprotéine membranaire (M) et la protéine d'enveloppe (E) fournissent la structure cyclique. À l'intérieur du virion se trouve une nucléocapside hélicoïdale composée de la protéine nucléocapside (N) complexée avec un génome d'ARN à brin positif unique d'environ 30 kb de longueur (Gralinski et Menachery, 2020). Tandis que le β -coronavirus contient une cinquième protéine structurelle, l'hémagglutinine-estérase (HE), qui est analogue à l'hémagglutinine.

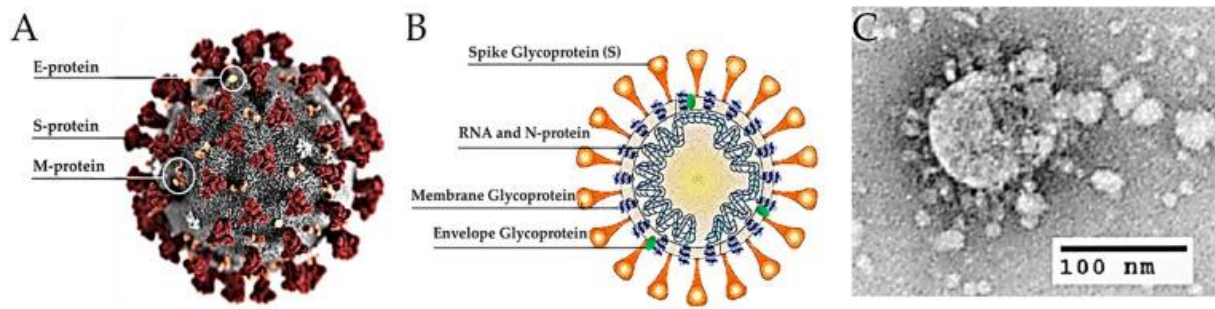


Figure 3 :Structure du SRAS-CoV-2. (A) Illustration du virion SARS-CoV-2 créé aux Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (B) Représentation schématique de la structure du SARS-CoV-2. (C) Une image au microscope électronique d'une fine section de SRAS.

2.2. Génome :

Le SRAS-CoV-2 est un virus à ARN caractérisé par une molécule d'ARN à brin positif simple brin, coiffé en 5'-coiffé de 26 à 32 kb, et l'ARN comprend au moins six cadres de lecture ouverts (ORF). Le premier ORF (ORF1a / b) comprend environ 2/3 du génome et code pour des protéines de réplicase, et les ORF restants codent principalement pour quatre protéines structurales : pointe (S), membrane (M), enveloppe (E) et nucléocapside (N).

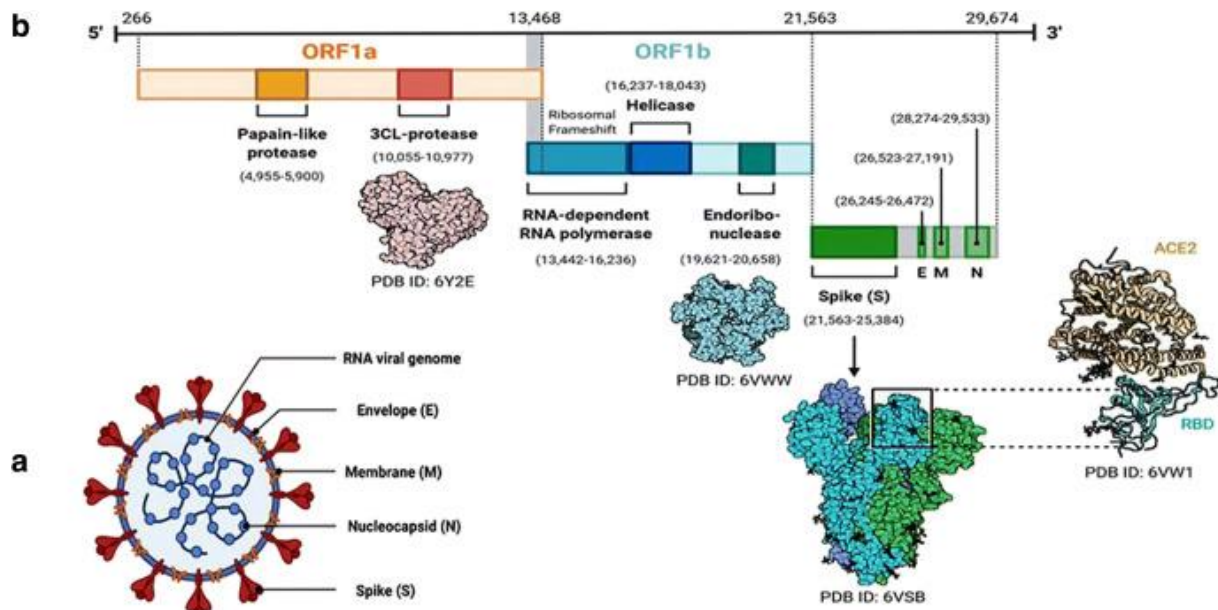


Figure 4: (A) Structure de la particule, du virion et (B) de l'organisation génomique du SRAS-CoV-2

Glycoprotéine

La protéine de coronavirus S 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 bronchite infectieuse, chez la volaille) à 1400 acides aminés (FCoV, coronavirus félin) (Belouzard et al., 2012). Il se trouve dans un trimère sur la surface du virion, donnant au virion un aspect corona ou couronne. Sur le plan fonctionnel, il est nécessaire pour l'entrée des particules de virion infectieux dans la cellule par interaction avec divers récepteurs cellulaires hôtes (Beniac et al., 2006).

En outre, il agit comme un facteur critique pour le tropisme tissulaire et la détermination de la gamme d'hôtes (Li., 2016). Notamment, la protéine S est l'une des protéines immunodominantes vitales des CoV capables d'induire des réponses immunitaires de l'hôte (Li., 2016). Les ectodomaines de toutes les protéines CoVs S ont des organisations de domaines similaires, divisées en deux sous-unités, S1 et S2 (Belouzard et al., 2012). Le premier, S1, contribue à la liaison aux récepteurs de l'hôte, tandis que le second, S2, explique la fusion. Le premier (S1) est en outre divisé en deux sous-domaines, à savoir le domaine N-terminal (NTD) et le domaine C-terminal (CTD). Ces deux sous-domaines agissent comme des domaines de liaison aux récepteurs, interagissant efficacement avec divers récepteurs hôtes (Li., 2016). Le S1 CTD contient le motif de liaison au récepteur (TCID

). Dans chaque protéine de pointe de coronavirus, le trimère S1 se localise au-dessus de la tige S2 trimérique (Li., 2016). Récemment, des analyses structurales des protéines S de COVID-19 ont révélé 27 substitutions d'acides aminés dans un tronçon de 1 273 acides aminés (Wu et al., 2020). Six substitutions sont localisées dans le RBD (acides aminés 357 à 528), tandis que quatre substitutions sont dans le RBM au CTD du domaine S1 (Wu et al., 2020). Il convient de noter qu'aucun changement d'acide aminé n'est observé dans le RBM, qui se lie directement au récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine-2 (ACE2) dans le SRAS-CoV (Wu et al., 2020 ; Ge et al., 2013). À l'heure actuelle, l'accent principal est de savoir combien de différences seraient nécessaires pour modifier le tropisme de l'hôte. La comparaison des séquences a révélé 17 changements non synonymes entre la séquence précoce du SRAS-CoV-2 et les isolats ultérieurs de SRAS-CoV. Les changements ont été trouvés dispersés sur le génome du virus, avec neuf substitutions dans ORF1ab, ORF8 (4 substitutions), le gène de pointe (3 substitutions) et ORF7a (substitution simple) (Wei et al., 2020). Notamment, les mêmes changements non synonymes ont été trouvés dans un cluster familial, indiquant que l'évolution virale s'est produite lors de la transmission de personne à personne (Wei et al., 2020 ; Li., 2020). Ces événements d'évolution adaptative sont fréquents et constituent un processus continuellement en cours une fois que le virus se propage parmi les nouveaux hôtes (Li., 2020). Même si aucun changement fonctionnel ne se produit dans le virus associé à cette évolution adaptative, une

surveillance étroite des mutations virales qui se produisent lors de la transmission interhumaine ultérieure est justifiée (Dhama et al., 2020).

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 et al., 2010). Il se lie à la nucléocapside et agit comme un organisateur central de l'assemblage du coronavirus (Nal et al., 2005). Les protéines du coronavirus M ont des teneurs en acides aminés très diverses mais conservent une similitude structurelle globale au sein de différents genres (Arndt., 2010). La protéine M a trois domaines transmembranaires, flanqués d'une courte terminaison amino à l'extérieur du virion et d'une longue terminaison carboxy 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 et al., 2020) (Dhama et al., 2020).

Protéine E

La protéine du coronavirus E est la plus énigmatique et la plus petite des principales protéines structurelles (Schoeman et Fielding., 2019). Il 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 efficace (Schoeman et Fielding., 2019) (Dhama et al., 2020).

Protéine N

La protéine N du coronavirus est polyvalente. Parmi plusieurs fonctions, il joue un rôle dans la formation de complexes avec le génome viral, facilite l'interaction de la protéine M nécessaire lors de l'assemblage du virion et améliore l'efficacité de la transcription du virus (Chang et al., 2006 ; Sheikh et al., 2020). Il 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 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 et al., 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 et al., 2005). Le LKR est capable d'interagir directement avec interaction ARN in vitro et est responsable de la signalisation cellulaire (Stohlman et al., 1988 ; You et al., 2005). Il module également la réponse antivirale de l'hôte en agissant comme antagoniste des interférons (IFN) et ARN (Cui et al., 2015). Par rapport à celle du SRAS-CoV, la protéine N du SRAS-CoV-2 possède cinq mutations d'acides aminés, dont deux sont dans la région intrinsèquement dispersée (IDR ; positions 25 et 26), une chacune dans le NTD (position 103), LKR (position 217) et CTD (position 334) (Wu et al., 2020) (Dhama et al., 2020).

Nsps et protéines accessoires

Outre les protéines structurales importantes, le génome du SRAS-CoV-2 contient 15 nsps, nsp1 à nsp10 et nsp12 à nsp16, et 8 protéines accessoires (3a, 3b, p6, 7a, 7b, 8b, 9b et ORF14) (Wu et al., 2020). Toutes ces protéines jouent un rôle spécifique dans la réplication virale (Chen et al., 2020). Contrairement aux protéines accessoires du SARS-CoV, le SARS-CoV-2 ne contient pas de protéine 8a et a une protéine 8b plus longue et plus courte 3b (Wu et al., 2020). Les protéines accessoires nsp7, nsp13, enveloppe, matrice et p6 et 8b n'ont pas été détectées avec des substitutions d'acides aminés par rapport aux séquences d'autres coronavirus (Wu et al., 2020) (Dhama et al., 2020).

2.3. Cycle de vie et réplication du SRAS-CoV-2

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

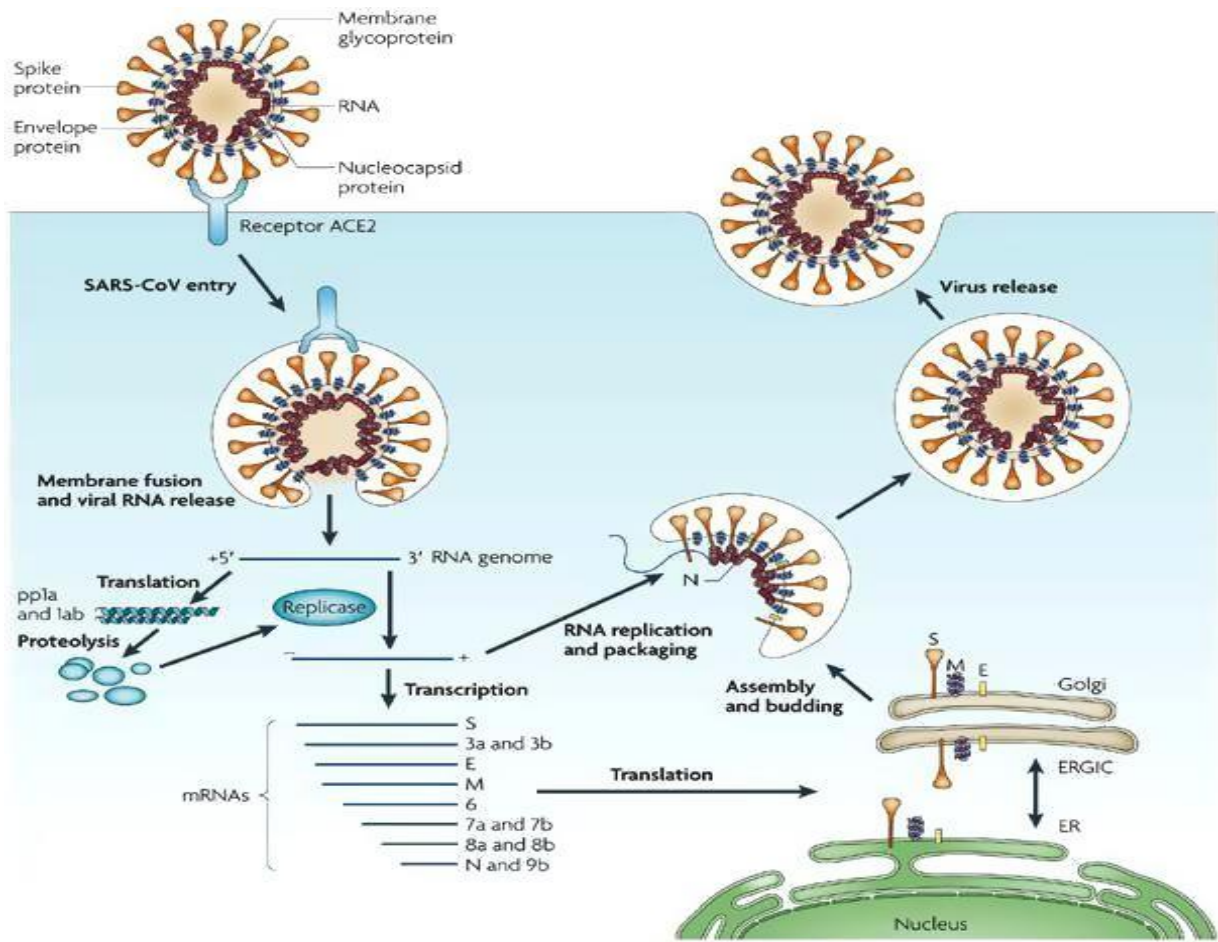


Figure 5: Cycle de réplication du SRAS-CoV-2.

Pénétration du virus dans la cellule hôte

La protéine S du SARS-CoV-2 utilise le récepteur cellulaire ACE2 - une métalloprotéine dont la fonction première est la dégradation de l'angiotensine II en angiotensine 1-7 - pour rentrer dans la cellule hôte (Zhou et al., 2020 ; Wang et al., 2020). Bien étudiée chez le SARS-CoV-1, la liaison de la sous unité S1 à ACE2 entraîne une modification conformationnelle de la protéine S, exposant S2 et permettant l'endocytose puis la fusion membranaire (de Wilde et al., 2018 ; de Wit et al., 2016). Cette fusion nécessite l'activation de S par le clivage au niveau de la jonction S1/S2 et d'un autre site de S2, notamment réalisée par la protéase membranaire TMPRSS2 (transmembrane protéase serine 2) (Hoffmann et al., 2020). Dans le cas du SARS-CoV-2, l'ajout d'un site de clivage furine (Coutard B et al., 2020) permet un clivage des sous-unités S1/S2 dès la biosynthèse virale (Walls et al., 2020) et pourrait majorer le potentiel infectant du virus (Wolfel et al., 2020).

De façon intéressante, en dehors d'ACE2, le SARS-CoV-2 pourrait également utiliser d'autres récepteurs cellulaires de la protéine S pour infecter les cellules n'exprimant pas ACE2, ainsi que démontrée sur des lymphocytes T in vitro (Wang et al., 2020).

La protéine moléculaire responsable de l'entrée du SRAS-CoV-2 dans les cellules hôtes humaines est l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) (Hoffmann et al., 2020). Cette protéine est largement présente dans différents organes tels que les poumons, les reins, le cœur et les tissus endothéliaux. Les principales fonctions de l'ACE2 sont la régulation à la baisse du système rénine-angiotensine (RAS), équilibrant la surmultiplication de la réponse médiée par le RAS et l'absorption rénale et gastro-intestinale des acides aminés (Kuba et al., 2010). Il agit également comme un moyen d'internalisation médiée par la clathrine de virus tels que le coronavirus du SRAS (Kuba et al., 2010). Des études récentes ont révélé que l'ACE2 interagit avec la protéase transmembranaire, la sérine 2 (TMPRSS2), qui est responsable de l'activation de la protéine S du SRAS-CoV-2, tout comme dans le coronavirus du SRAS (Fehr et al., 2015 ; Hoffmann et al., 2020 ; Matsuyama et al., 2010). La protéine S de la structure virale interagit avec l'enzyme ACE2 de surface, ce qui conduit à l'internalisation du matériel viral. Lorsque l'ARN viral est libéré dans le cytoplasme de l'hôte, le processus de traduction virale a lieu en utilisant la machinerie cellulaire de l'hôte (Hoffmann et al., 2020) (Baek et al., 2020).

Cycle de réplication

Après la fusion et le largage de la nucléocapside dans le cytosol de la cellule hôte, la machinerie cellulaire traduit le gène de la réplicase en deux polyprotéines (pp1a et pp1ab) clivées en nombreuses protéines indispensables au cycle viral (notamment deux protéases virales et une ARN-polymérase ARN-dépendant) s'assemblant en un large complexe de transcription et de réplication (de Wilde et al., 2018 ; de Wit et al., 2016). Ce complexe permet d'une part de reproduire l'ARN viral et d'autre part, par le biais de la formation de petits brins d'ARN anti-sens appelés ARN sous-génomiques, la production de protéines de structure des nouveaux virions, ces protéines sont insérées dans le RE et passent le long de la voie de sécrétion vers le compartiment intermédiaire ER-Golgi (ERGIC) (Fehr et al., 2015). Finalement les brins d'ARN synthétisés sont combinés avec la protéine N pour former la nucléocapside et l'assemblage avec les glycoprotéines d'enveloppe permet le bourgeonnement de nouvelles particules virales (de Wit et al., 2016) (Bonny et al., 2020).

3. Epidémiologie :

3.1. Au monde :

Selon les récentes mises à jour de l'OMS, dans le monde, il y a environ 48 millions de cas confirmés et en augmentation dans les pays américains, européens et d'Asie du Sud-Est (OMS 2020). À ce jour, 216 pays et territoires ont été touchés par la pandémie du COVID-19 avec un taux de mortalité de 5,9% estimé par l'OMS.

Tableau 1: Nombre de cas de Covid-19 par continent au 5 novembre 2020 (source : Ecdc.Europa.eu / Ined.fr)

	Nombre de cas positifs au Covid-19 (en millions)	Pourcentage de la population positive au Covid-19
Amérique	21 239 675	2,08%
Europe	11 173 822	1,50%
Asie	13 884 681	0,30%
Afrique	1 828 828	0,14%
Océanie	43 861	0,10%
Autres	696	0%

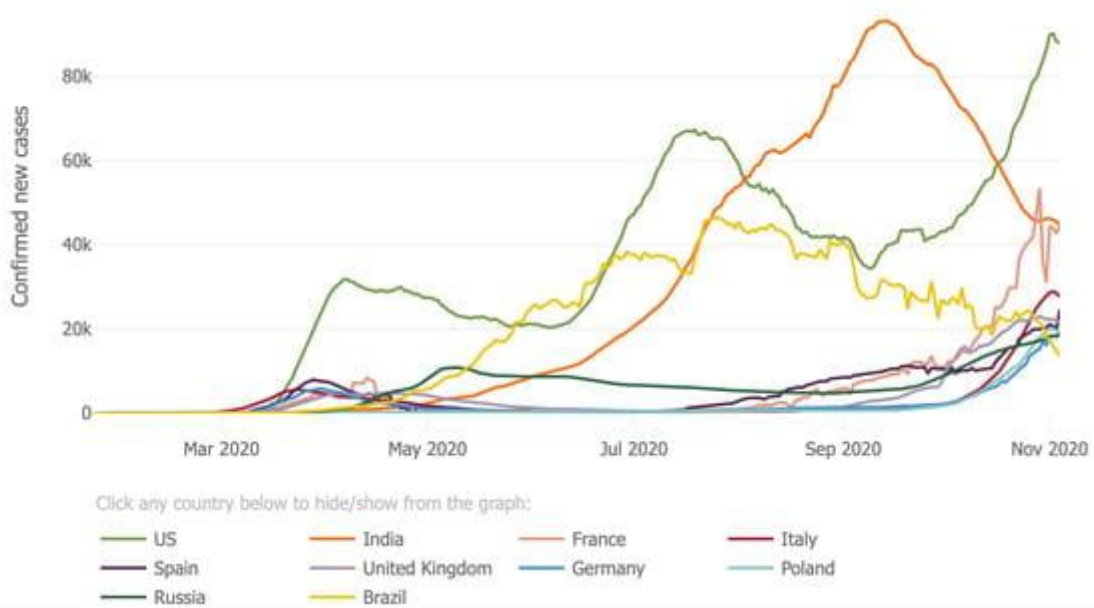


Figure 6: Evolution des nouveaux cas de Covid-19 dans les 10 pays du monde les plus affectés (nombre de cas), au 6 novembre 2020

Après l'apparition du virus en Chine en décembre, l'Europe est rapidement devenue l'épicentre de l'épidémie obligeant plusieurs pays à confiner les populations dès le mois de mars. Puis le virus s'est propagé aux États-Unis, en Amérique du Sud et en Inde. Bien que la maladie soit désormais mieux contenue dans l'origine suspectée, les États-Unis ont connu la plus forte augmentation des cas de coronavirus au cours des derniers mois, qui représente environ un quart du nombre total d'infections dans le monde. Les États-Unis, le Brésil et l'Inde sont les pays les plus touchés, représentant environ la moitié des personnes infectées par le COVID-19 dans le monde (OMS 2020).

Tableau 2: Les 10 pays recensant le plus grand nombre de cas de Covid-19 dans le monde au 6 novembre 2020.

Pays	Nombre de cas confirmés	Nombre total d'habitants (en millions)	Pourcentage de la population infectée
Etats-Unis	9 609 569	328,2	2,93%
Inde	8 411 724	1 353	0,62%
Brésil	5 590 025	209,5	2,67%
Russie	1 720 063	144,5	1.19%
France	1 648 989	66,9	2,46%
Espagne	1 306 316	47	2.78%
Argentine	1 217 028	44,5	2.73%
Royaume-Uni	1 126 469	66.65	1.69%
Colombie	1 117 977	49	2.28%
Mexique	949 197	126,2	0.75%

Les pays européens ont connu le nombre maximum de décès liés aux coronavirus que toute autre partie du monde, suivie des États-Unis. Cependant, le nombre total de décès réel peut être plus élevé que le nombre de décès confirmés, en raison du nombre limité de tests et des problèmes d'attribution de la cause du décès et de la différence entre les décès confirmés

déclarés et le nombre total de décès qui varie d'un pays à l'autre.

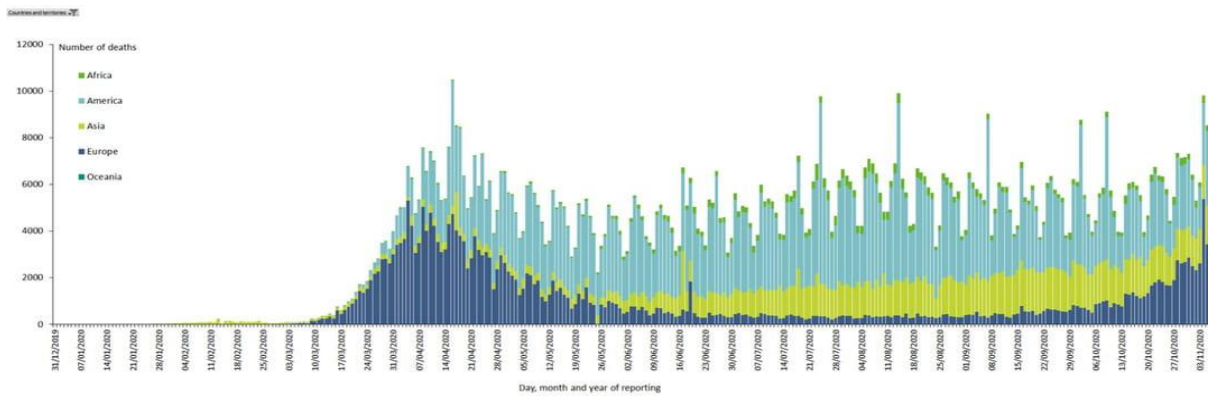


Figure 7: Evolution des décès du Covid-19 dans le monde, globale et par continent, au 5 novembre 2020

Au 5 novembre, selon Santé publique France, les foyers majeurs de l'épidémie sont l'Europe et l'Amérique (États-Unis et Amérique Latine), à l'origine de respectivement 52% et 30% des cas rapportés dans le monde entre 26 octobre et le 1er novembre. Un déclin de l'épidémie est observé en Asie du Sud-Est où sont localisés 11% des cas rapportés dans le monde.

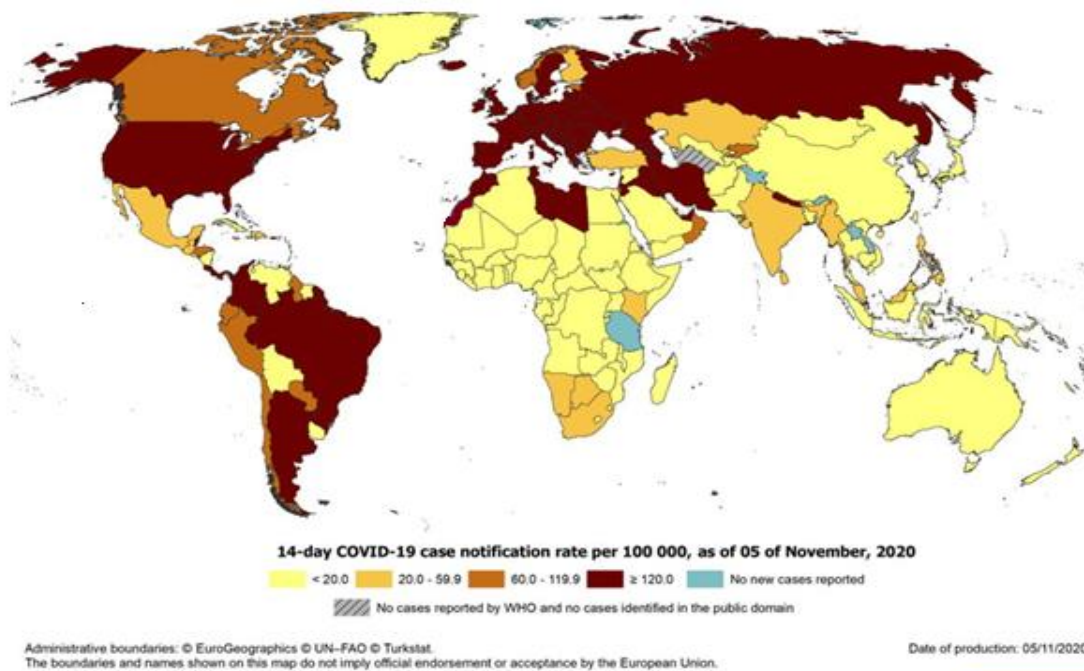


Figure 8: Répartition géographique du nombre cumulé de cas de COVID-19 signalés pour 100 000 habitants, dans le monde, sur les 14 derniers jours, au 5 novembre 2020

Étonnamment, les hommes courent un risque significativement plus élevé d'avoir des symptômes graves et des décès, par rapport aux femmes (OMS 2020). Un nombre maximum d'individus infectés appartient à la tranche d'âge de 21 à 45 ans ; cependant, les décès sont plus fréquents chez les patients âgés, c'est-à-dire au-dessus de 60 ans. Si la situation actuelle perdure pendant une durée plus longue et qu'aucun médicament / vaccin thérapeutique n'est disponible, on s'attend à ce que près d'un tiers de la population mondiale soit infectée et que des millions de décès surviennent dans le monde (Bhatti et al., 2020).

3.2. Au Maroc :

En mars 2020, le premier cas de maladie à coronavirus confirmée (COVID-19) a été enregistré au Royaume du Maroc, le patient qui a présenté une pneumonie aiguë était un cas importé d'Europe. Depuis lors et jusqu'au 6 novembre, un total de 246349 cas confirmés en laboratoire d'infection par le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2) ont été signalés dans les différentes régions du pays, dont 4127 décès (<http://www.covidmaroc.ma/pages/Accueilfr.aspx>).

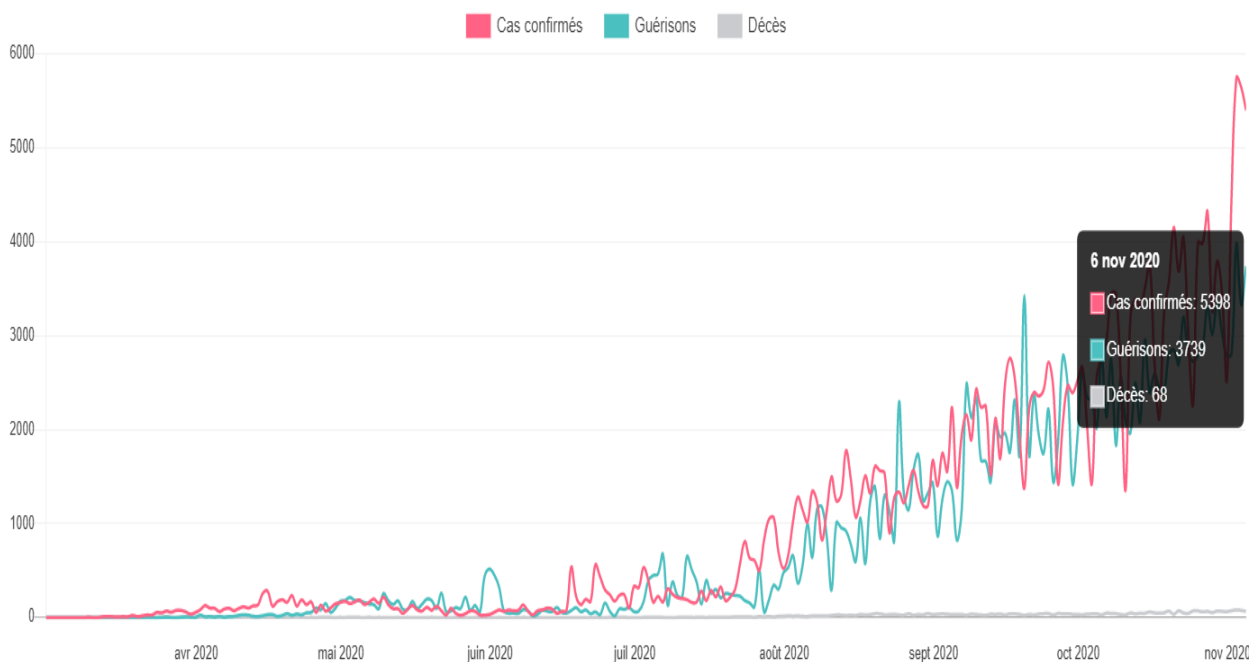


Figure 9: L'évolution de la pandémie du coronavirus par jour au Maroc

Le nombre de diagnostics et de décès continue d'augmenter au Maroc et constitue une menace continue et croissante pour la santé. A la date du 6 novembre 2020, le royaume a enregistré **5398** contaminations, **3739** guérissons et **68** décès (<http://www.covidmaroc.ma/pages/Accueilfr.aspx>). L'âge avancé, comorbidités, et des

marqueurs inflammatoires élevés sont des facteurs prédictifs de la gravité du COVID-19. L'identification de ces facteurs de risque pourrait aider à cibler les personnes vulnérables dans les stratégies de soins et à réduire le taux de mortalité. Mais les données sur les patients gravement malades infectés par le SRAS-CoV-2 en Afrique sont limitées, en particulier dans le nord du continent (Ben hassaen et al., 2020).

Tableau 3: Coronavirus. Répartition des cas par Région le 06-11-2020

Région	Total des cas	en 24h	Décès en 24h
Grand Casablanca-Settat	33215	+2119	+17
Rabat Salé Kenitra	11494	+916	+2
Oriental	9171	+740	+15
Tanger Tétouan Al Hoceima	4763	+360	+3
Souss-Massa	4757	+432	+8
Marrakech Safi	3720	+292	+5
Beni Mellal-Khénifra	2775	+175	+11
Darâa-Tafilalet	1692	+101	
Fès Meknès	1600	+119	+7
Laâyoune-Sakia El Hamra	927	+46	
Guelmim Oued Noun	718	+61	
Dakhla-Oued Ed Dahab	606	+37	

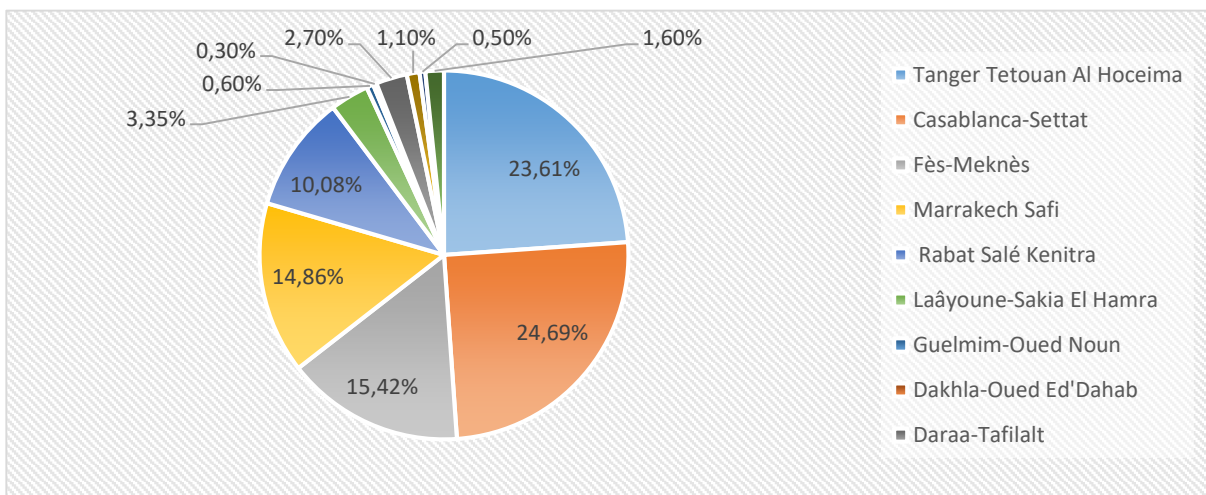


Figure 10: Pourcentage des cas positifs par région.

Le Royaume du Maroc est divisé en 12 régions administratives, la répartition des cas confirmés selon les différentes régions du Maroc sont illustrées sur la Figure 9. On note que les villes qui comprennent le plus de populations ont les effectifs les plus confirmés. En effet, Casablanca

présente la plus forte densité d'habitants et un grand nombre de confirmés (982 pour 352,82 hab. / km²), c'est-à-dire que la proportion de cas confirmés est de 24,69%. Bien que moins denses, les villes de Fès-Meknès et Marrakech-Safi ont enregistré un nombre important de cas confirmés (499 pour 12,37 hab / km² et 802 pour 2,62 hab / km², respectivement). Certes, la densité de la population influe dans une large mesure sur la contagion. Pourtant, il est nécessaire de rechercher les causes des contaminations dans ces villes moins peuplées. Les cérémonies et les marchés hebdomadaires seraient les principales causes de contamination (Ben hassaen et al., 2020).

Tableau 4: tableau d'évolution du Coronavirus au Maroc pdt les 30 derniers jours

Date	Pays	Cas	Total		Taux			NV cas par jour		
			Morts	Guérisons	% Décès	% Guérisons	% Malades	Cas	Décès	Guérisons
2020-11-07	Maroc	246349	4127	200954	1.68%	81.57%	16.75%	0	0	0
2020-11-06	Maroc	246349	4127	200954	1.68%	81.57%	16.75%	+5398	+68	+3739
2020-11-05	Maroc	240951	4059	197215	1.68%	81.85%	16.47%	+5641	+77	+3329
2020-11-04	Maroc	235310	3982	193886	1.69%	82.40%	15.91%	+5745	+82	+3977
2020-11-03	Maroc	229565	3900	189909	1.70%	82.73%	15.58%	+4495	+74	+2808
2020-11-02	Maroc	225070	3826	187101	1.70%	83.13%	15.17%	+2526	+64	+2788
2020-11-01	Maroc	222544	3762	184313	1.69%	82.82%	15.49%	+3460	+67	+3038
2020-10-31	Maroc	219084	3659	181275	1.69%	82.74%	15.57%	+3790	+70	+3350
2020-10-30	Maroc	215294	3625	177925	1.68%	82.64%	15.67%	+3256	+53	+3014
2020-10-29	Maroc	212038	3572	174911	1.68%	82.49%	15.82%	+4320	+66	+3320
2020-10-28	Maroc	207718	3506	171591	1.69%	82.61%	15.70%	+3985	+61	+2885
2020-10-27	Maroc	203733	3445	168706	1.69%	82.81%	15.50%	+3988	+72	+2784
2020-10-26	Maroc	199745	3373	165922	1.69%	83.07%	15.24%	+2264	+72	+2727
2020-10-25	Maroc	197481	3301	163195	1.67%	82.64%	15.69%	+3020	+46	+2823
2020-10-24	Maroc	194461	3255	160372	1.67%	82.47%	15.86%	+4045	+50	+3197
2020-10-23	Maroc	190416	3205	157175	1.68%	82.54%	15.77%	+3685	+73	+2694
2020-10-22	Maroc	186731	3132	154481	1.68%	82.73%	15.59%	+4151	+53	+2847
2020-10-21	Maroc	182580	3079	151634	1.69%	83.05%	15.26%	+3577	+52	+2796
2020-10-20	Maroc	179003	3027	148838	1.69	83.15%	15.16%	+3254	+51	+2417

2020-10-19	Maroc	175749	2976	146421	1.69%	83.31%	14.99%	+2117	+48	+2449
2020-10-18	Maroc	173632	2928	143972	1.69%	82.92%	15.40%	+2721	+50	+2591
2020-10-17	Maroc	170911	2878	141381	1.68%	82.72%	15.59%	+3763	+60	+2392
2020-10-16	Maroc	167148	2818	138989	1.69%	83.15%	15.16%	+3498	+46	+2953
2020-10-15	Maroc	163650	2772	136036	1.69%	83.13%	15.18%	+3317	+46	+2077
2020-10-14	Maroc	160333	2726	133959	1.70%	83.55%	14.76%	+3387	+41	+2497
2020-10-13	Maroc	156946	2685	131462	1.70%	83.76%	14.53%	+3185	+49	+1664
2020-10-12	Maroc	153761	2636	129498	1.70%	84.22%	14.07%	+1357	+31	+2091
2020-10-11	Maroc	152404	2605	127407	1.71%	83.60%	14.69%	+2563	+33	+2553
2020-10-10	Maroc	149841	2572	124854	1.72%	83.32%	14.96%	+3443	+42	+1832
2020-10-09	Maroc	146398	2530	123022	1.73%	84.03%	14.24%	+3445	+44	+2747

4. Transmission :

4.1. Transmission inter-espèce :

Le SARS-CoV-2 appartient aux virus apparentés au SARS-CoV dont le réservoir est la chauve-souris. Si le génome du SARS-CoV-2 présente 79 % d'homologie avec le SARS-CoV-1 et 52 % d'homologie avec le MERS-CoV (Ren et al., 2020 ; Wu et al., 2020), les virus les plus proches phylogénétiquement sont des coronavirus de la chauve-souris, notamment le RaTG13-CoV (96 % d'homologie) (Zhou et al., 2020).

Cependant, les lieux de vie des chauve-souris étant éloignés des communautés humaines, le passage inter-espèce a probablement nécessité un hôte intermédiaire, comme l'ont été la civette palmée pour le SARS-CoV-1 ou le dromadaire pour MERS-CoV (De Wit et al., 2020 ; Zhang et al., 2020). Dans le cas du SARS-CoV-2, le pangolin, mammifère sauvage notamment consommé en Chine et dont la niche écologique recouvre celle des chauves-souris, pourrait avoir joué ce rôle, comme le suggère l'isolement d'une souche de coronavirus du pangolin très proche phylogénétiquement (92 % d'homologie) (Zhang et al., 2020 ; Lam et al., 2020). Par ailleurs, par rapport au SARS-CoV-1 et aux coronavirus de la chauve-souris, le SARS-CoV-2 présente une modification importante du domaine liant de récepteur situé sur la protéine S et responsable d'un gain d'affinité pour son récepteur ACE2 (Zhou et al., 2020 ; Wrapp et al., 2020 ; Wang et al., 2020). Ce domaine de liaison est retrouvé quasiment à l'identique (seulement un acide-aminé différent) chez un coronavirus du pangolin (Lam et al., 2020 ; Xiao et al., 2020), accréditant l'idée que l'évolution du virus au contact du pangolin pourrait avoir

favorisé le passage à l'homme, possiblement via la translocation du domaine de liaison (Bonny et al., 2020).

Ce saut inter-espèce se serait produit en Chine, possiblement au marché de Huanan, puisque la majorité des premiers cas de COVID-19 y ont été exposés fin 2019 (Huang et al., 2020).

4.2. Transmission interhumaine :

La principale voie de transmission du SRAS-CoV-2 passe par les gouttelettes respiratoires et le contact étroit. Dans un environnement relativement fermé, il existe une possibilité de transmission par aérosol lorsqu'il est exposé à des concentrations élevées d'aérosol pendant une longue période. D'autres voies, telles que la transmission fécale-orale, mère-enfant, urinaire et par voie sanguine, doivent être confirmées par des recherches supplémentaires.

Transmission par gouttelettes : les patients COVID-19 produisent des gouttelettes qui restent temporairement dans l'air dans un rayon de 4 m, en toussant, en éternuant, en parlant. Cela peut provoquer des infections chez les personnes vulnérables, après inhalation (Bureau général de la Commission nationale de la santé, 2020 ; Jiang et al., 2020 ; Lu et al., 2020).

Transmission par contact : des gouttelettes contenant du SARS-CoV-2 sont déposées à la surface des objets. Une fois que les mains des personnes vulnérables ont été contaminées par contact, elles peuvent ensuite être déplacées vers les muqueuses de la cavité buccale, de la cavité nasale, des yeux, etc., et provoquer une infection (General Office of National Health Commission, 2020).

Transmission fécale-orale : à plusieurs endroits, le SRAS-CoV-2 a été détecté dans l'œsophage, le tractus gastro-intestinal et les selles de patients confirmés (Pan et al., 2020), indiquant que le virus peut se répliquer et survivre dans digestif et suggérant un risque possible de transmission fécale-orale (Gimeno et al., 2008 ; Commission, 2020 ; Guan et al., 2020).

Transmission de la mère à l'enfant : le SRAS-CoV et le MERS-CoV peuvent entraîner de graves complications pendant la grossesse (Wong et al., 2004 ; Alfaraj et al., 2019), ainsi qu'une pathogénicité similaire et un degré élevé d'homologie de séquence entre le SRAS-CoV-2, le SRAS-CoV et le MERS-CoV suggère que le SRAS-CoV-2 peut également entraîner de graves complications maternelles et / ou périnatales (Huang et al., 2020). Cependant, il n'y a aucune preuve que le SRAS-CoV-2 peut avoir des conséquences néfastes graves chez le nouveau-né ou se propager au fœtus dans l'utérus. De même, il n'y a pas non plus de preuve d'infection périnatale par le SRAS chez les nourrissons nés de ces mères (Wong et al., 2004). Des cas

d'infection par le SRAS-CoV-2 ont été signalés récemment chez des femmes dont la grossesse a été confirmée (Zeng L et al., 2020), indiquant une possibilité significative de transmission mère-enfant, mais la possibilité d'une exposition à l'infection à la naissance ne peut être exclue. En raison de la taille limitée de l'échantillon, de l'âge gestationnel et de l'état incomplet de la collecte des échantillons, il n'est pas tout à fait clair si le SRAS-CoV-2 est transmis de la mère à l'enfant.

Autres voies de transmission : chez des patients atteints de COVID-19 atteints de conjonctivite, le SRAS-CoV-2 a été détecté dans les larmes et les sécrétions conjonctivales (Xia et al., 2020). Les macaques rhésus peuvent être efficacement infectés par le SRAS-CoV-2 par voie oculaire conjonctivale (Deng et al., 2020). Zhong et coll. a également isolé un nouveau coronavirus à partir d'un échantillon d'urine d'un patient COVID-19. Ainsi, ceux-ci doivent également être considérés comme des voies de transmission possibles, via la contamination de l'environnement. La clarification des types spécifiques de voies de transmission aide à protéger les personnes en bonne santé et réduit ainsi le taux d'infection dans la population.

5. Présentations cliniques :

Après transmission par gouttelettes, contact et autres modes, le virus se réplique dans les cellules des voies respiratoires (supérieures et inférieures) et gastro-intestinales. Le spectre clinique du COVID-19 peut varier d'un état asymptomatique et légèrement symptomatique à un état clinique défavorable caractérisé par une insuffisance respiratoire sévère nécessitant une ventilation mécanique et une hospitalisation et un état critique (Cascella et al., 2020 ; Neerukonda, SN et Katneni, U., 2020).

Les symptômes cliniques typiques du COVID-19 sont la fièvre, la fatigue et la toux sèche. Les symptômes cliniques atypiques comprennent l'expectoration, les maux de tête, l'hémoptysie, les nausées, les vomissements et la diarrhée. Un dysfonctionnement chimiosensoriel, tel qu'une perte d'odeur et de goût, est également étroitement associé à l'infection au COVID-19, mais est généralement récupéré dans les 2 à 4 semaines après l'infection (Yan et al., 2020). Certains patients confirmés sont asymptomatiques (Chang et al., 2020 ; Ki et Task Force for 2019-nCoV, 2020 ; Rothe et al., 2020) ou ont une faible fièvre, une légère fatigue ou d'autres symptômes, sans présenter de pneumonie, et la plupart récupéré après 1 semaine.

Les patients atteints de pneumonie modérée présentent des symptômes tels que toux et essoufflement (tachypnée). Les patients cliniquement diagnostiqués avec une pneumonie

sévère présentent des symptômes avec ou sans fièvre, dyspnée sévère, détresse respiratoire, tachypnée (> 30 respirations / min) et hypoxie (SpO2 <90% à l'air ambiant) (Cascella et al., 2020). Les patients présentant une insuffisance respiratoire soudaine ou une aggravation de la fonction pulmonaire déjà altérée sont diagnostiqués avec un syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) et nécessitent une ventilation mécanique (Cascella et al., 2020). Différentes formes de SDRA sont légères, modérées et sévères. La tomодensitométrie thoracique (TDM) révèle des opacités bilatérales de verre dépoli et des zones sous-segmentaires de consolidation (Cascella et al., 2020).

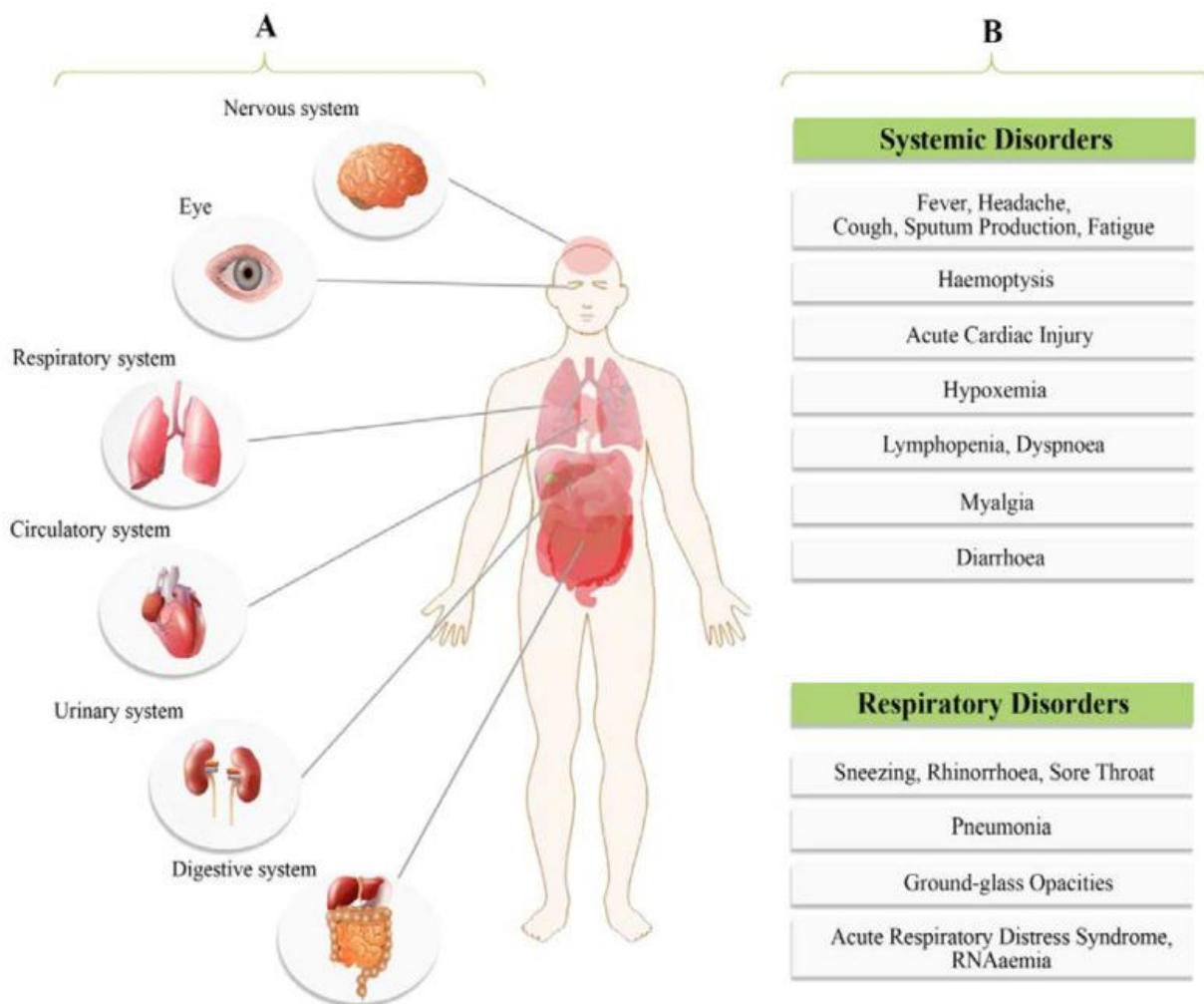


Figure 11: Les symptômes les plus courants du COVID-19

Les caractéristiques cliniques des patients atteints de COVID-19 atteints de septicémie sont particulièrement critiques avec un large éventail de signes et de symptômes impliquant plusieurs organes (Cascella et al., 2020). Ces signes et symptômes comprennent des manifestations respiratoires, telles qu'une dyspnée et une hypoxémie sévères, une insuffisance rénale avec un débit urinaire réduit, une tachycardie, une altération de l'état mental et un

dysfonctionnement de la coagulation. L'altération fonctionnelle de plusieurs tissus telle que reflétée dans les résultats de laboratoire comprend la lymphopénie, l'hyperbilirubinémie, l'augmentation des D-dimères, l'acidose, un taux élevé de lactate, la coagulopathie et la thrombocytopénie (Neerukonda, SN et Katneni, U., 2020).

Une méta-analyse d'un certain nombre d'études de recherche a été menée et les anomalies suivantes des indicateurs sanguins ont été trouvées : diminution de l'albumine (75,8%), augmentation de la protéine C-réactive (58,3%), augmentation de la lactate déshydrogénase (LDH) (57,0%), diminution des lymphocytes (43,1%) et augmentation de la vitesse de sédimentation des érythrocytes (VS) (41,8%). En outre, l'examen radiographique pulmonaire a révélé que la plupart des nouveaux patients atteints de pneumonie à coronavirus présentaient une lésion pulmonaire bilatérale (72,9%) qui était principalement caractérisée par des opacités en verre dépoli (68,5%) (Rodriguez-Morales et al., 2020 ; Guo et al.,2020).

6. Diagnostic

Deux stratégies principales de détection sont actuellement disponibles pour le diagnostic du SRAS-CoV-2 soit via la détection de l'ARN viral ou de l'anticorps produit lors de l'exposition à l'infection. L'ARN viral du SARS-CoV-2 est généralement détecté par des techniques de réaction en chaîne par polymérase (PCR) ou d'hybridation d'acide nucléique. L'anticorps ou les antigènes viraux peuvent être détectés en utilisant des dosages immunologiques et sérologiques tels que ELISA. Il convient de noter que les deux catégories de détection sont importantes et se complètent. La détermination de l'ARN du virus conduit à la détection du virus à son stade actif, tandis que les tests sérologiques permettent d'identifier les personnes dont le système immunitaire a déjà développé des anticorps pour lutter contre l'infection (Sheikhzadeh et al., 2020)

6.1. Tests immunologiques :

Les immunoessais sont des méthodes qui reposent sur la détection ou la quantification des interactions antigène / anticorps. Ils peuvent produire des données précieuses sur la dynamique des infections virales et des expositions antérieures (Lee et al., 2020). En revanche, les anticorps sont plus résistants que l'ARN viral et sont moins dégradés par le transport, le stockage et la collecte (Younes et al., 2020).

Les infections microbiennes entraînent généralement la production d'IgM au niveau de la première ligne de défense et les IgG sont générées au stade suivant sous forme d'immunité à long terme et de mémoire immunologique. Au cours de l'infection par le SRAS, les IgM et IgG étaient détectables dans le sang du patient après 3 à 6 jours et 8 jours, respectivement (Li et al., 2020 ; Racine et Winslow., 2009). Ainsi, la détection des deux anticorps pourrait aider à déterminer la date de l'infection. Pour le SRAS-CoV-2, les IgM et IgG peuvent être détectées 3 à 4 jours après la pré-morbide, respectivement (Lee et al., 2020).

Certains tests immunologiques ont été développés pour détecter le virus COVID-19. **L'immunoessai luminescent à base de peptides** a été développé pour détecter les anticorps IgG et IgM du SARS-CoV-2 (Cai et al., 2020). Vingt peptides synthétiques provenant de protéines ORF1ab, de pointe (S) et de nucléocapside (N) ont été choisis comme antigènes. Les peptides purifiés marqués à la biotine ont été capturés par des billes magnétiques recouvertes de streptavidine. Ensuite, les échantillons de sérum contenant les anticorps ont été mélangés avec les billes modifiées et la réactivité a été mesurée par un lecteur à luminescence. Un peptide de la protéine S a montré les meilleurs résultats. La valeur seuil et la spécificité du test ont été évaluées par la détection de 200 sérums sains et de 167 sérums de patients infectés par d'autres agents pathogènes respiratoires, respectivement. De plus, une étude de stabilité a été réalisée en répétant la mesure d'échantillons de sérum avec des concentrations différentes pendant 10 fois. Les taux positifs d'anticorps IgG et IgM étaient de 71,4% et 57,2% et pour les deux anticorps étaient de 81,5% (Cai et al., 2020).

Le dosage immuno-enzymatique (ELISA) est une autre méthode développée pour la détection du COVID-19. ELISA est une méthode sensible pour détecter l'antigène ou l'anticorps d'intérêt dans les échantillons qui peut être réalisée en utilisant des formats directs ou indirects. Dans la méthode directe, un anticorps lié à une enzyme détermine directement l'antigène dans l'échantillon. Dans la méthode indirecte, un anticorps primaire est utilisé pour se lier à un antigène qui a été déposé sur une microplaque. Ensuite, un anticorps secondaire marqué par une enzyme est appliqué pour détecter l'anticorps primaire (Yu et al., 2015).

Le test immunochromatographique (ICA), à savoir le dosage immunologique à flux latéral, est une méthode qualitative pour détecter l'analyte à l'œil nu. Cette méthode peut produire des données semi-quantitatives en les couplant à un simple lecteur (Huang et al., 2019). Jie Xiang et coll. (Xiang et al., 2020) ont étudié l'application de deux nouveaux kits basés sur le test ELISA et le test or colloïdal ICA pour la détection du COVID-19. Le kit ELISA a été conçu

pour détecter les anticorps IgM et IgG. L'IgM a été mesurée par ELISA direct. A cette fin, une microplaque modifiée avec un anticorps monoclonal anti-IgM humain de souris et un anticorps marqué par une enzyme a été utilisée pour détecter les IgM de SARS-CoV-2 dans des échantillons de sérum. Pour les mesures indirectes d'IgG, la microplaque a été recouverte de l'antigène recombinant du SARS-CoV-2. Dans l'étape suivante, l'anticorps de souris monoclonal conjugué à la HRP pour le SARS-CoV-2 a été utilisé pour détecter les IgG par liaison compétitive. Ensuite, la tétraméthylbenzidine a été utilisée comme substrat enzymatique pour produire la couleur. Pour le test ICA, des échantillons de sérum dilués ont été ajoutés au tampon d'échantillon de la bandelette de test. Si la couleur des lignes de test et de contrôle passe au rouge, le résultat du test est considéré comme positif. Sinon, si seule la ligne de contrôle devient rouge, le résultat est négatif et deux lignes incolores signifient que le test n'a pas fonctionné. La sensibilité de l'ELISA et de l'ICA était de 87,3% et 82,4%, respectivement et les deux méthodes ont montré des résultats négatifs pour les témoins sains. Les deux méthodes sont relativement simples et rapides et leurs réponses peuvent être utilisées comme résultats de référence (Sheikhzadeh et al., 2020).

Un test d'immunoanalyse à flux latéral a été développé pour la détection des IgM et des IgG dans les échantillons de sang par Li et al. (Li et al., 2020). La bandelette de test avait deux lignées de test pour les IgM et IgG et une lignée témoin qui ont été modifiées respectivement avec une IgM anti-humaine de souris, une IgG anti-humaine de souris et une IgG anti-lapin. Les résultats des tests de 352 patients sur 397 étaient positifs (sensibilité de 88,66%) et 12 échantillons sanguins de 128 personnes sans infection par le SRAS-CoV-2 ont montré des résultats positifs qui donnent une spécificité de 90,63%. L'analyse de 58 échantillons de patients du 8e au 32e jour après l'infection a montré que 94,83% des patients positifs avaient à la fois des IgM et des IgG et 1,72% et 3,45% des patients n'avaient que des IgM et des IgG, respectivement. Le test de bandelette a été vérifié avec du sang prélevé au doigt du patient, du sang veineux et du plasma et il a montré une uniformité de 100% et a démontré l'applicabilité du test pour les mesures de POC (Sheikhzadeh et al., 2020).

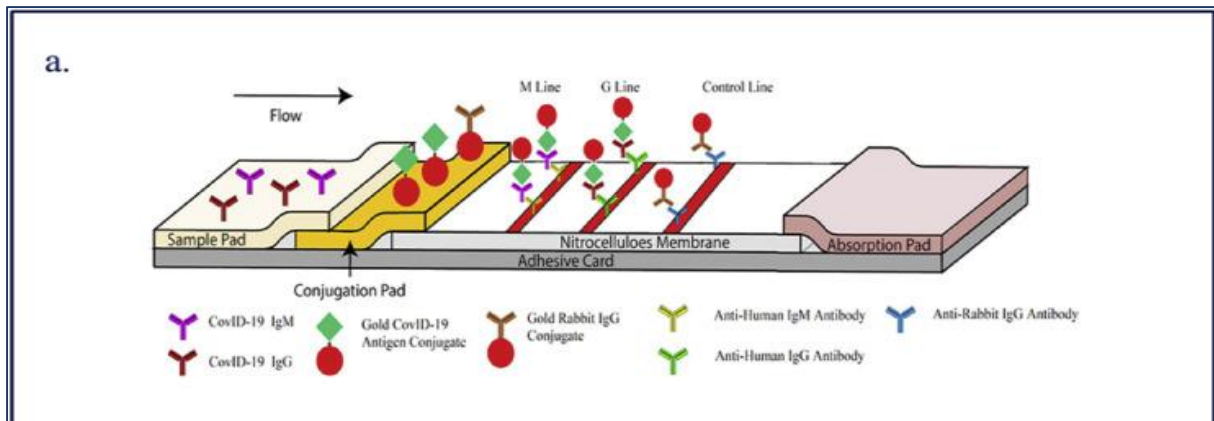


Figure 12: Test immunologique à flux latéral pour la détection des IgM et IgG du SRAS-CoV-2.

Un test immunochromatographique de fluorescence a également été appliqué à la détection du SARS-CoV-2 dans lequel les lignes de contrôle et de test ont été modifiées respectivement avec un anticorps IgG de chèvre anti-lapin et une protéine anti-nucléocapside de souris. Des microparticules de chélate de polystyrène Europium (III) modifié par un carboxylate avec la protéine anti-nucléocapside de l'anticorps monoclonal SARS-CoV-2 M4 ou de l'IgG de lapin ont été ajoutées au tampon de conjugaison. La capture de la protéine de nucléocapside par l'anticorps dans les lignes de test et de contrôle a provoqué l'apparition de la bande fluorescente qui a été mesurée par un analyseur de fluorescence. 100 échantillons d'écouvillons nasaux d'individus en bonne santé ont été utilisés pour évaluer la valeur seuil du test. Un écouvillon nasopharyngé dilué ou des échantillons d'urine ont été versés dans le puits d'échantillon et les bandelettes ont été lues après 10 min. Les résultats positifs ont été obtenus en analysant la valeur de l'échantillon par rapport à la valeur seuil. Les échantillons ont également été testés avec RT-PCR. Il y avait 208 résultats positifs de 239 patients. Parmi 208 personnes avec des résultats positifs de RT-PCR, 141 cas ont montré des résultats positifs pour l'antigène (68%). Tous les échantillons négatifs avec RT-PCR étaient également négatifs avec le test ICA. 14/19 patients avec des résultats positifs avaient un antigène dans leurs échantillons d'urine. L'efficacité de Coris COVID-19 Ag Respi-Strip en tant que test de première ligne pour le SARS-CoV2 a été étudiée dans des échantillons nasopharyngés. Le test a montré une sensibilité de 30,2% (32/106) et une spécificité de 100% parmi les échantillons positifs de RT-PCR. Une charge virale d'environ $1,7 \times 10^5$ copies mL⁻¹ a entraîné un taux de détection plus élevé tandis que $9,4 \times 10^3$ copies mL⁻¹ ont montré une forte diminution de la sensibilité du test (Scochy et al., 2020).

La sensibilité et la spécificité des dosages immunologiques sont considérées comme des facteurs impératifs dans l'application pratique de ces méthodes. Pour la détection du SRAS-

CoV-2, les dosages immunologiques utilisaient principalement des protéines S, N et du domaine de liaison au récepteur (RBD) comme cibles (Sheikhzadeh et al., 2020).

6.2. Techniques d'amplification :

6.2.1. Réaction par chaîne polymérase de transcription inverse :

Les méthodes de PCR sont basées sur l'amplification de gènes et de leurs transcriptions d'ARN isolés à partir d'échantillons biologiques. L'enzyme ADN polymérase, les échantillons d'ADN extraits, les amorces et les désoxynucléosides triphosphates sont les composants essentiels d'un kit de test PCR. La PCR par transcription inverse (RT-PCR) est un type de méthodes de PCR qui utilise l'enzyme de transcriptase inverse pour convertir des molécules d'ARN en molécules d'ADNc. Ensuite, l'ADNc fonctionne comme une séquence modèle pour la réaction PCR (Shahi et al., 2018). La PCR quantitative détermine une molécule d'ADN à l'aide d'un colorant fluorescent ou d'une sonde d'ADN fixée par un fluorophore comme TagMan (Shahi et al., 2018). Une méthode RT-PCR typique comprend quatre étapes. 1- Isolement d'ARN suivi d'une synthèse d'ADNc avec un kit de transcription inverse. 2- Tampon de mélange, enzyme ADN polymérase, amorces d'un gène cible, désoxynucléoside triphosphate, matrice d'ADNc et colorant fluorescent, 3- Incubation du mélange à différentes températures pour effectuer un cyclage thermique dans un instrument de PCR et des mesures de fluorescence pour le calcul du seuil de cycle (Ct) et 4- Estimation de l'expression relative basée sur les données Ct d'échantillons témoins et expérimentaux (Jalandra et al., 2020). La sélection d'un contrôle positif standard influence la précision de la RT-PCR (Bai et al., 2020). Le résultat de la PCR est considéré comme positif si la valeur Ct était inférieure à 40 (Sethuraman et al., 2020). Les méthodes de RT-PCR sont généralement conçues pour amplifier les gènes *S*, *E*, *N*, *RdRp* et *ORF1a / b* tandis que les gènes *ORF1a / b* et *E* ont été utilisés plus fréquemment (Cui et al., 2020). Récemment, l'OMS a compilé une liste comprenant divers protocoles de détection du SRAS-CoV-2, élaborée par des chercheurs en Chine, en Allemagne, à Hong Kong, au Japon, en Thaïlande, en France et aux États-Unis (OMS 2020). Les positions relatives des ensembles d'amorces-sondes RT-qPCR sur le génome du SARS-CoV-2 sont indiquées dans (figure 13) (Sheikhzadeh et al., 2020).

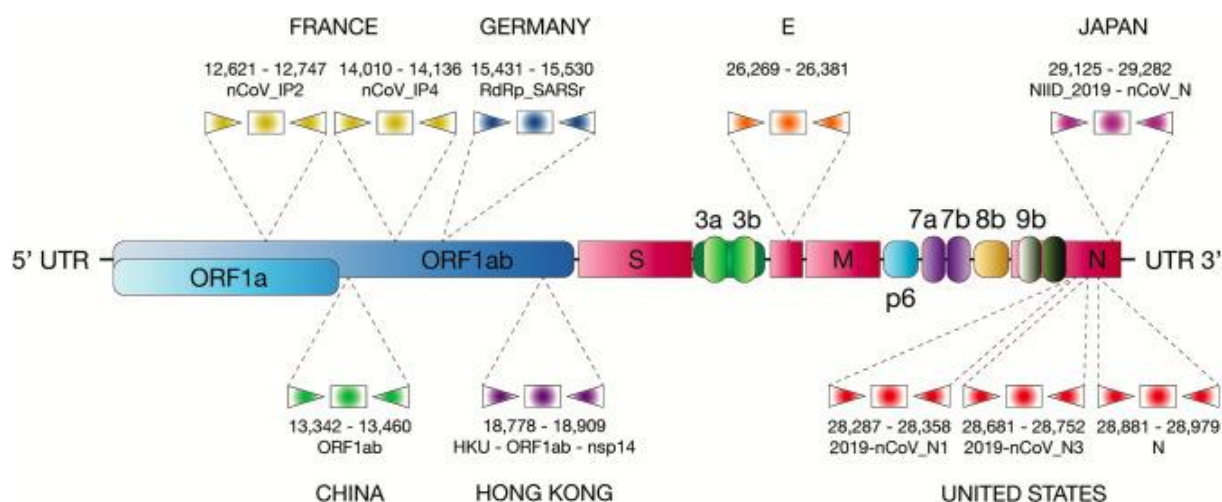


Figure 13: Positions des ensembles d'amorces-sondes qRT-PCR listées par l'OMS.

On manque encore d'informations sur la variété génétique du SRAS-CoV-2 chez l'homme et l'animal. Par conséquent, deux tests de RT-PCR capables de détecter plusieurs coronavirus dans le sous-genre de Sarbecovirus ont été développés (Chu et al., 2020). Ces tests qRT-PCR en une étape ont identifié deux régions différentes du génome viral ; ORF1ab et N. L'étude a été appliquée aux coronavirus du SRAS-CoV-2 et du SRAS tandis que l'ARN du coronavirus du SRAS a été utilisé comme contrôle positif. De plus, les produits RT-PCR du coronavirus du SRAS produits par l'ORF1b et N les dosages géniques ont été clones dans des plasmides. En raison de l'application de plasmides d'ADN en tant que standards positifs, le test a atteint une limite de détection de 10 copies par réaction. Les échantillons de contrôle étaient complètement négatifs et des échantillons réels de deux patients infectés avaient montré des résultats positifs. Les auteurs ont recommandé le gène N pour le dépistage et le gène ORF1b pour confirmer les résultats. Ces tests ont permis d'atteindre une large plage dynamique (Chu et al., 2020). La méthode d'extraction des nanoparticules magnétiques (pcMNPs) sur colonne de spin et polyaminoester a été utilisée dans la RT-PCR conventionnelle et l'amplification RT-PCR directe du virus SARS-CoV-2. La RT-PCR directe a été appliquée avec des nanoparticules magnétiques revêtues de polyaminoester. Les nanoparticules magnétiques ont été synthétisées avec une réaction de coprécipitation et une hydrolyse de TEOS / APTES. Puis NH₂-MNP a réagi avec le polymère préparé pour former un polyaminoester par une réaction d'addition de Michael. Le protocole d'extraction directe d'ARN a montré une efficacité d'extraction d'ARN de près de 100% dans les échantillons de sérum et a fourni des produits de haute pureté sans interférence avec les réactifs de PCR. En utilisant cette méthode, les étapes de lyse et de liaison ont été combinées et le pcMNP a été appliqué directement dans le système RT-PCR. Les pcMNPs ont une excellente capacité de liaison à l'ARN viral qui a fourni une sensibilité élevée

(10 copies) et une large plage linéaire (jusqu'à 10⁵ copies). Cette méthode peut être couplée à des systèmes automatisés d'extraction d'acide nucléique. Il est également adaptable aux méthodes d'amplification isotherme et peut être utilisé dans les dispositifs POC (Zhao et al., 2020). Trois nouveaux tests RT-PCR en temps réel pour les gènes RdRp / hélicase (Hel), S et N du SARS-CoV-2 ont été développés. Par rapport au test RdRp-P2 rapporté qui est utilisé dans plus de 30 laboratoires européens, la limite de détection la plus basse a été atteinte par le test RdRp / Hel qui était de 1,8 TCID₅₀ mL⁻¹ et 11,2 copies d'ARN / réaction avec l'ARN génomique et l'ARN in vitro transcriptions, respectivement. 28,2% des résultats des tests de personnes confirmées avec COVID-19 étaient positifs à la fois par les tests RdRp / Hel et RdRp-P2. Le test SARS-CoV-2 RdRp / Hel était positif pour les personnes dont RdRp-P2 les résultats des tests étaient négatifs. Le test SARS-CoV-2- RdRp / Hel était spécifique et il n'y avait pas d'interférence avec les HCoV et d'autres pathogènes respiratoires dans la culture cellulaire et les échantillons cliniques (Chan et al., 2020). Corman et coll. (Corman et al., 2020) ont conçu un flux de travail pour la détection du SARS-CoV-2 à l'aide de la technologie des acides nucléiques synthétiques dans le cas où les isolats de virus ou les échantillons de patients réels ne sont pas disponibles. Ils ont proposé d'utiliser le test du gène E comme outil de dépistage de première intention et de confirmer les résultats du test avec le test du gène RdRp. Le test du gène RdRp avec détection bicolore était capable de distinguer le SARS-CoV-2 du SARS-CoV. Ils ont obtenu les meilleurs résultats avec le gène E et gène RdRp (LOD de 3,2 et 3,7 copies / réaction, respectivement), tandis que le gène N était moins sensible. Ils ont également évalué la LOD pour l'ARN transcrit in vitro qui était identique à la séquence de SARS-CoV-2. Les LODs obtenues étaient de 3,9 et 3,6 copies / réaction pour les dosages du gène E et de RdRp, respectivement. Ils ont également conçu une sonde spécifique (RdRp-SARSr-P 2) pour le SARS-CoV-2RNA qui ne répondait pas à l'ARN du SARS-CoV. Les coronavirus humains endémiques (HCoV) ; 229 E, NL63, OC43 et HKU1, ainsi que le MERS-CoV n'ont eu aucune interférence avec leurs résultats (Corman et al., 2020) (Sheikhzadeh et al., 2020).

Le test AusDiagnostics Multiplex-tandem PCR (MT-PCR) qui comprend deux étapes d'amplification en tandem a également été appliqué pour la détection du SARS-CoV-2. La première étape d'amplification (enrichissement) a utilisé une amorce externe spécifique avec moins de nombres de cycles de PCR. Dans la deuxième étape d'amplification, la région cible dans le produit de la première étape a été amplifiée par des amorces internes. 7839 échantillons ont été analysés avec cette méthode et 127 échantillons ont été détectés positifs. Une analyse comparative avec le laboratoire de référence de l'État a montré une cohérence de 118/127

(92,9%). Après enquête sur les écarts, 125/127 (98,4%) résultats positifs ont été obtenus et cette méthode a démontré un diagnostic fiable du SRAS-CoV-2 (Attwood et al., 2020). Protocoles établis dans divers pays pour la RT-PCR disponibles sur le site Web de l'OMS. Le site Web du CDC a également signalé des protocoles pour les États-Unis (Sheikhzadeh et al., 2020).

6.2.2. Amplification d'acide nucléique isotherme :

L'amplification d'acide nucléique isotherme est une technique qui est utilisée pour amplifier les acides nucléiques à température constante évitant l'exigence complexe de la PCR régulière qui nécessite de changer plusieurs températures à chaque cycle (Zhao et al., 2015 ; Martzy et al., 2019).

Plusieurs techniques d'amplification d'acide nucléique isotherme ont été précédemment développées pour la détection du SRAS-CoV telles que l'amplification médiée par la transcription (TMA), l'amplification isotherme médiée par boucle (LAMP), l'amplification en cercle roulant (RCA) et les répétitions palindromiques courtes régulièrement espacées (CRISPR). Dans la méthode LAMP de transcription inverse pour la détection du SARS-CoV (Thai et al., 2004), quatre amorces ont été utilisées pour améliorer la sensibilité du test. Le produit d'amplification dans la méthode LAMP peut être détecté en mesurant la turbidité de la solution ou la fluorescence d'un colorant intercalant. De plus, les échantillons non purifiés peuvent être appliqués directement dans LAMP (Park et al., 2020). Cette méthode est un moyen rapide et économique pour la détection de virus, mais elle est limitée à un seul échantillon par analyse (Sheikhzadeh et al., 2020).

La RT-LAMP a été réalisée en une étape à 63 ° C en 30 min pour détecter le SARS-CoV-2. La densité optique à 400 nm et le changement de couleur de l'orange au vert ont été utilisés pour détecter l'amplification. Le test était capable d'identifier le gène ORF1ab, le gène E et le gène N simultanément avec des taux d'exactitude de 99%, 98,5% et 92,3%, respectivement. Les gènes ORF1ab et N ont montré une spécificité et une sensibilité plus élevées. La RT-LAMP et la RT-PCR avaient une spécificité similaire de 99% pour l'évaluation de 208 échantillons cliniques et une sensibilité dans des échantillons dilués 20 fois avec une LOD de 1000 copies mL⁻¹. Dans cette méthode, trois amplifications géniques ont été combinées pour prouver la présence de SARS-CoV-2. La technique était spécifique en raison de l'utilisation de six à huit amorces pour distinguer huit régions différentes sur l'ADN cible (Yang et al., 2020). Le virus SARS-CoV-2 provenant de l'ARN purifié ou de la lyse cellulaire a été détecté visuellement avec la méthode LAMP. La méthode LAMP a été réalisée avec 5 jeux d'amorces complets

ciblant l'ARN du SARS-CoV-2 avec des régions d'amplicon conçues pour la région 5' du gène ORF1a et du gène N. Le test a montré des résultats identiques avec le test RT-qPCR pour les échantillons d'ARN des écouvillons respiratoires (Zhang et al., 2020). ORF1a région et le logiciel en ligne Primer Explorer V5 ont été appliqués pour concevoir des amorces RT-LAMP. Par analyse de spécificité, un jeu d'amorces avec plusieurs paires d'amorces de boucle a été sélectionné. Ces six amorces se distinguaient par 8 régions distinctes du gène ORF1ab. La séquence d'amorces a été vérifiée contre 11 virus apparentés similaires par la méthode BLAST et il n'y avait aucune similitude avec les virus sélectionnés. L'amplification a été détectée par le changement de la couleur du rose au jaune. La méthode a illustré une sensibilité similaire avec la méthode RT-qPCR et était capable de détecter 10 copies de SARS-CoV-2 (Yu et al., 2020). Une autre méthode RT-LAMP (Lamb et al., 2020) qui pouvait distinguer SRAS-CoV-2 dans des échantillons de patients simulés en moins de 30 min a été développé. Six amorces RT-LAMP ont été arrangées avec une séquence de GenBank MN908947 qui présentait une grande similitude avec d'autres souches de SRAS-CoV-2 alors qu'elle était différente du coronavirus de type Bat SARS. De plus, les amorces ont été conçues sans quatre guanines d'affilée qui peuvent provoquer la formation de structures tétraplex qui pourraient interférer dans la procédure RT-LAMP. Des amplifications positives ont été détectées en changeant la couleur de l'orange au jaune ainsi qu'en analysant par électrophorèse fluorescente et sur gel. Selon les données d'électrophorèse sur gel, le meilleur résultat a été obtenu à 63 ° C pendant 30 min et les 6 amorces étaient nécessaires pour obtenir des résultats positifs. Le niveau de détail de la méthode était d'environ 1.02 fg et était en accord avec qRT-PCR qui utilisait des amorces avec la même zone du génome de SRAS-CoV-2. Différents échantillons enrichis tels que sérum, salive, urine, écouvillons oropharyngés et écouvillons nasopharyngés ont été utilisés pour déterminer l'interférence de la méthode RT-LAMP avec d'autres virus et aucune réactivité croisée n'a été observée. Des échantillons d'urine et de plasma ont été utilisés sans aucun traitement (Sheikhzadeh et al., 2020).

Le test TMA est une technique d'amplification qui utilise une transcriptase inverse rétrovirale et une ARN polymérase T7 pour la détection (Hofmann et al., 2005). Cette technique a la capacité de criblage à haut débit de plusieurs échantillons ainsi que de plusieurs agents pathogènes simultanément. Un test Hologic APTIMA transcription TMA a été comparé à la méthode RT-PCR dans 116 écouvillons nasopharyngés. Une sensibilité supérieure (98,15%) du test TMA (52/53) par rapport à 96,25% de la RT-PCR (51/53) avec une limite de détection de $5,5 \times 10^2$ copies dans 1 échantillon sur 5 ont été rapportées (Gorzalski et al., 2020).

CRISPR est également une autre méthode d'amplification isotherme prometteuse pour la détection des virus. Dans cette méthode, certaines enzymes bactériennes telles que Cas12 et Cas13 sont programmées pour couper certaines séquences d'ARN viral suivies d'une amplification isotherme et d'une lecture visuelle avec un fluorophore sur des bandes de papier. Broughton et coll. (Broughton et al., 2020) ont rapporté une méthode de détection basée sur CRISPR-Cas12 pour le SRAS-CoV-2 dans des écouvillons respiratoires. Cette méthode a montré une sensibilité et une sélectivité élevées dans les extraits d'ARN par rapport à la RT-PCR. Dans cette méthode, CRISPR-Cas12 et la technologie d'écoulement latéral ont été couplés pour la détection rapide du SRAS-CoV-2 à partir d'écouvillons nasopharyngés ou oropharyngés (Broughton et al., 2020). Ce test est peu coûteux, relativement rapide et a donc un grand potentiel pour le diagnostic POC du COVID 19. Le système de réaction à un pot a été appliqué dans cette méthode et tous les matériaux nécessaires à l'amplification et à la détection CRISPR ont été mélangés en une seule étape et incubés à 37 ° C. Cette méthode rapide et robuste peut être développée pour former un test POC (Ding et al., 2020) (Sheikhzadeh et al., 2020).

7. Traitement

Actuellement, il n'y a pas de traitement antiviral efficace, par conséquent, la prévention ou le traitement du COVID-19 peut être une approche alternative pour atténuer la progression rapide de la maladie et la mortalité élevée. Les études d'essais cliniques ciblant l'axe ACE2 / Ang 1-7 et l'interaction ACE2 avec la protéine S attirent une grande attention pour le traitement des patients atteints de COVID-19 présentant des lésions pulmonaires et cardiovasculaires et la prévention de la propagation de la maladie (Gheblaoui et al., 2020). En outre, ces études d'essais cliniques faciliteront grandement la pathogenèse du COVID-19 (Datta et al., 2020).

7.1. Inhibiteurs de l'interaction Spike et ACE2

La protéine de pointe (S) médie la liaison au récepteur viral et la fusion membranaire. En tant que tels, les inhibiteurs qui empêchent la liaison au récepteur ou la fusion membranaire peuvent servir de stratégies viables pour empêcher une dissémination supplémentaire du virus chez les patients infectés. Plus précisément, perturbation de l'interaction entre ACE2 et les motifs critiques au sein de la sous-unité S2, constituée d'une région de peptide de fusion (FP) et de deux régions de répétition de l'heptade : HR1 et HR2 (figure 14) peut être particulièrement efficace. À cet égard, un peptide inhibiteur de fusion pan-coronavirus, EK1, ciblant les domaines HR1 des protéines HCoV S, s'est avéré efficace contre la fusion membranaire médiée

par la protéine SARS-CoV-2 S in vitro (Xia et al., 2020). Le même groupe a également montré qu'une version lipopeptidique de EK1 connue sous le nom d'EK1C4 empêchait la fusion membranaire médiée par la protéine SARS-CoV-2 S et l'infection par un pseudovirus avec des CI50 de 1,3 et 15,8 nM. Cet effet inhibiteur est 241 et 149 fois plus puissant que le peptide EK1 original, respectivement (Xia et al., 2020). En ce qui concerne l'interaction entre la protéine de pointe et le récepteur ACE2, une autre approche consiste à éponger le virus en utilisant des concentrations élevées d'APN01, une forme soluble recombinante d'ACE2 humaine (rhACE2) non seulement pour bloquer l'entrée virale, mais également pour protéger les poumons des blessures. Il a été rapporté que la protéine S du SRAS-CoV n'influence pas l'hydrolyse de l'Ang II en Ang- (1-7) par l'ACE2 144 soluble. Par conséquent, les inhibiteurs de pointe peuvent ne pas se lier et réguler à la baisse l'ACE2. L'Ang II ou d'autres substrats peptidiques interféreraient directement avec la liaison et l'internalisation de SAR-CoV-2. Cependant, APN01 (rhACE2), développé par APEIRON, est prévu pour un essai multicentrique en Europe (NCT04335136). Il est important de noter que l'administration d'ACE2 dans la circulation n'empêcherait pas nécessairement l'infection par le SRAS-2. Au lieu de cela, une administration intranasale de rhACE2 augmenterait probablement l'efficacité de la prévention et du traitement du COVID-19, ce qui justifie d'autres études cliniques. Certains autres médicaments recombinants ACE2 puissants tels que ACE2-Ig qui a une meilleure propriété pharmacologique et un effet neutralisant puissant du virus pseudotypé SRAS-CoV-2 est en développement pour la contre-mesure de Covid-19 (Lei et al., 2020) (Datta et al., 2020).

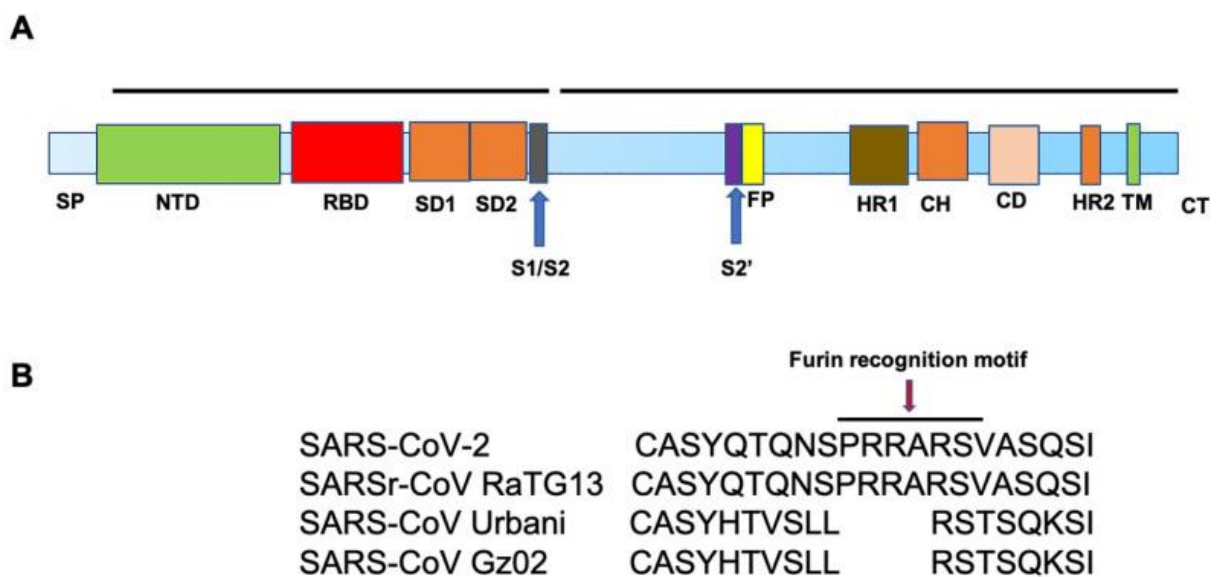


Figure 14: A. Représentation schématique de la structure de la protéine SARS-CoV-2 Spike, B. Illustration de la localisation du site de clivage de la furine (PRRARS) dans SARS-CoV-2.

7.2. Anticorps neutralisants

Contrairement aux vaccins, puisqu'un anticorps offre une protection immédiate, le développement d'un anticorps qui se lie à un épitope conservé sur la protéine de pointe du SRAS-CoV-2 peut neutraliser le virus chez les patients avant même qu'ils ne produisent leurs propres anticorps. Les études suivantes ont jusqu'à présent réussi à générer des anticorps neutralisants ciblant la protéine S qui sont efficaces in vitro. Les anticorps à domaine unique (VHH) d'un lama immunisé avec la protéine de coronavirus S stabilisée par préfusion neutralise les virus pseudotypés du SRAS-CoV-2 S (Wrapp et al., 2020). Un anticorps monoclonal humain mAb 47D11 qui cible très probablement la structure centrale conservée du S1B RBD, neutralise le SARS-CoV-2 en culture cellulaire (Wang et al., 2020). Un anticorps de neutralisation croisée S309, neutralise puissamment les pseudovirus SARS-CoV-2 et SARS-CoV ainsi que les authentiques SARS-CoV-2 en engageant le S RBD (Pinto et al., 2020). Des anticorps monoclonaux spike-specific dérivés de cellules B uniques d'individus infectés par le SRAS-CoV-2 ont été isolés et caractérisés (Catalan., 2020). Ces anticorps neutralisants seront testés pour prévenir la propagation du COVID-19 et traiter les patients sévères du COVID-19 (Pinto et al., 2020). En outre, la thérapie plasmatique de convalescence pour COVID-19 est une approche viable pour réduire la mortalité par COVID-19 car elle semble sûre et cliniquement efficace (Datta et al., 2020).

7.3. Thérapie immunitaire

La réponse immunitaire amplifiée et la libération de cytokines ou « tempête de cytokines » observées dans l'infection par le SRAS-CoV-2 pourraient entraîner une défaillance multiorganique. Par conséquent, les anticorps monoclonaux dirigés contre les cytokines inflammatoires ou ses récepteurs peuvent être des thérapies d'appoint pour COVID-19. À cet égard, les études cliniques montrent que l'augmentation de l'IL-6 est un facteur clé de l'inflammation (Zhou et al., 2020). Plusieurs essais cliniques randomisés avec Tocilizumab (anticorps monoclonal contre IL-6), seul ou en association (NCT04310228, ChiCTR20000297), et Sarilumab, un autre antagoniste des récepteurs de l'IL-6 (NCT04315298) sont en cours chez des patients atteints de COVID-19 dans le monde entier (Datta et al., 2020).

7.4. Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACEI) et antagonistes des récepteurs de l'angiotensine (ARA)

L'hypertension est un facteur de risque commun de mortalité chez les personnes atteintes de COVID-19. Il est postulé que la modulation du système de l'angiotensine par l'ACEI, comme l'énalapril, le lisinopril, le captopril et le ramipril, ou les ARB, comme le losartan, le candésartan et le valsartan, pourrait être utilisée dans la prévention et le traitement du SRAS-CoV-2. L'utilisation de ces deux modulateurs du système de l'angiotensine dans la prise en charge clinique du COVID-19 a occupé le devant de la scène en raison de découvertes controversées dans les études animales qui montrent une augmentation de l'expression de l'ECA2 avec l'utilisation de l'ACEI, du lisinopril ou des ARB, du losartan, à des doses beaucoup plus élevées, supérieur à celui prescrit aux patients (Ferrario et al., 2005). L'utilisation hospitalière d'ACEI / ARA est associée à un risque plus faible de mortalité toutes causes confondues et à une amélioration des résultats cliniques par rapport aux non-utilisateurs d'ACEI / ARA (Meng et al et al., 2020 ; Zhang et al., 2020). Le traitement par les IECA ou les ARA continue de fournir une protection cardiovasculaire et rénale aux patients diagnostiqués avec COVID-19 (Meng et al et al., 2020 ; Zhang et al., 2020), de sorte que l'arrêt de ces médicaments peut être nocif dans cette population de patients (Rossi et al., 2020). Par conséquent, plusieurs sociétés scientifiques recommandent vivement aux patients de poursuivre leur traitement médicamenteux hypertenseur actuel en attendant les résultats d'essais contrôlés randomisés portant sur l'impact des inhibiteurs du système rénine-angiotensine (IRSR) sur la morbidité et la mortalité du COVID-19 (Tedeschi., 2020). Par exemple, les directives actuelles de contrôle et de prévention des Centers for Disease (CDC) pour les soins cliniques des patients atteints de COVID-19 (3 avril 2020) soulignent que « ... il n'y a pas de données suggérant un lien entre les ACEI ou les ARA avec un COVID pire- 19 résultats ». L'American Heart Association (AHA), la Heart Failure Society of America (HFSA) et l'American College of Cardiology (ACC) recommandent le maintien de ces médicaments pour les patients qui les reçoivent déjà pour une insuffisance cardiaque, une hypertension ou une cardiopathie ischémique (HFSA / La déclaration ACC / AHA répond aux préoccupations concernant l'utilisation des antagonistes RAAS dans COVID-19) (Datta et al., 2020).

7.5. Médicaments antiviraux

Les médicaments antiviraux existants sont efficaces dans le traitement du lopinavir-ritonavir, de l'hydroxychloroquine et de la chloroquine utilisée chez les patients pendant une épidémie de

SRAS ou de MERS, afin d'évaluer leur efficacité dans l'inhibition de la réplication du SRAS-CoV-2.

Remdesivir : Le remdesivir est un inhibiteur de l'ARN polymérase ARN-dépendante. À ce jour, des études sur le remdesivir montrent qu'il est très efficace pour inhiber l'infection au 2019-nCoV dans les cellules Vero E6 (Wang et al., 2020 ; Choy et al., 2020). Dans une étude récente, l'utilisation compassionnelle du remdesivir chez des patients hospitalisés pour COVID-19 sévère a montré une amélioration clinique chez 36 des 53 patients (Grein et al., 2020). Dans un essai multicentrique randomisé, en double aveugle et contrôlé par placebo chez un patient COVID-19 sévère dans le Hubei, la Chine n'a montré aucun bénéfice clinique statistiquement significatif (Wang et al., 2020). Les résultats préliminaires d'un essai clinique contrôlé randomisé avec le remdesivir indiquent que les patients atteints de COVID-19 gravement malades qui ont reçu une perfusion intraveineuse de remdesivir ont eu un temps de récupération 31% plus rapide que ceux qui ont reçu un placebo. Le délai médian de récupération était de 11 jours pour les patients traités par remdesivir comparé à 15 jours dans le groupe placebo (NCT04280705) (Datta et al., 2020).

Lopinavir-Ritonavir : Il a été démontré que le lopinavir avait un effet antiviral contre le virus SARS-CoV-2 dans les cellules Vero E6 (Choy et al., 2020). Une étude avec le lopinavir / ritonavir a montré qu'il ne raccourcit pas la durée de l'excrétion du SRAS CoV-2 (Cheng et al., 2020), cependant, dans une étude menée à Hong Kong, comparée à la ribavirine seule, les patients traités par le lopinavir / ritonavir plus ribavirine avaient un risque plus faible de SDRA ou la mort causée par le SRAS-CoV après l'apparition des symptômes (Chu et al., 2004) (Datta et al., 2020).

Hydroxychloroquine et chloroquine : La chloroquine (CQ) et l'hydroxychloroquine (HCQ) sont des aminoquinoléines, qui ont été utilisées pour traiter le paludisme et les maladies auto-immunes. Des études récentes montrent que la CQ et la HCQ sont efficaces contre l'infection par le SRAS-CoV-2 dans les cellules Vero E6 (Wang et al., 2020 ; Yao et al., 2020). Cependant, un essai prospectif randomisé de 30 adultes atteints de COVID-19 en Chine a révélé que le HCQ avec un traitement conventionnel était comparé à 15 patients traités avec un traitement conventionnel ne montraient qu'une efficacité de HCQ, et un patient du groupe HCQ a progressé vers une maladie grave (Chen et al., 2020) (Datta et al., 2020).

8. Vaccin

Il n'y a pas de vaccin disponible contre le COVID-19, tandis que les vaccins antérieurs ou les stratégies utilisées pour développer un vaccin contre le SRAS-CoV peuvent être efficaces. La protéine recombinante de la souche Urbani (AY278741) de SRAS-CoV a été administrée à des souris et des hamsters, entraînant la production d'anticorps neutralisants et une protection contre le SRAS-CoV (Bisht et al., 2005 ; Kam et al., 2007). Le fragment d'ADN, virus entier inactivé ou souche à vecteur vivant de SRAS-CoV (AY278741), a réduit significativement l'infection virale dans divers modèles animaux (Yang et al., 2004 ; Kapadia et al., 2005 ; Bisht et al., 2004 ; Buchholz et al., 2004 ; Bukreyev et al., 2004). Différentes autres souches de SRAS-CoV ont également été utilisées pour produire des vaccins inactivés ou à vecteurs vivants qui réduisaient efficacement la charge virale dans des modèles animaux. Ces souches comprennent, Tor2 (AY274119) (See et al., 2006 ; Weingart et al. : 2004), Utah (AY714217) (Spruthal et al., 2006), FRA (AY310120) (Stadler et al., 2005), HKU-39849 (AY278491) (Kam et al., 2007 ; Takasuka et al., 2004), BJ01 (AY278488) (Tang et al., 2004 ; Qinal., 2006), NS1 (AY508724) (Zhou et al., 2005), ZJ01 (AY297028) (Zhou et al., 2005), GD01 (AY278489) (Qinal., 2006) et GZ50 (AY304495) (Qu., 2005). Cependant, il y a peu de vaccins en cours de développement contre le SRAS-CoV-2. Le vaccin à base d'ARNm préparé par l'Institut national américain des allergies et des maladies infectieuses contre le SRAS-CoV-2 est en phase d'essai 1 (Mckay., 2020). Le vaccin à base d'ADN INO-4800 sera bientôt disponible pour les tests sur l'homme (Inovio., 2020). Centre chinois de contrôle et de prévention des maladies (CDC) travaillant sur le développement d'un vaccin à virus inactivé (J et al., 2020 ; Cheung., 2020). Bientôt, l'échantillon du vaccin à base d'ARNm (préparé par Stermirna Therapeutics) sera disponible (Xinhuwa., 2020). GeoVax-BravoVax travaille au développement d'un vaccin à base de vaccin modifié Ankara (MVA) (Geo-Vax., 2020). Tandis que Clover Biopharmaceuticals développe un vaccin à base de sous-unité-trimère de protéine 2019-nCoV S recombinante (Clover B., 2020).

9. La prévention

Le développement de vaccins prend du temps. Par conséquent, pour l'instant, il reste extrêmement important de suivre les conseils sur la séparation sociale, le lavage fréquent des mains et la désinfection de votre maison et de votre lieu de travail (Xiao et al., Sd). Plusieurs rapports montrent que le SRAS-CoV-2 peut se propager plus facilement et provoquer une maladie potentiellement mortelle par rapport à d'autres virus CoV. Comme les autres

coronavirus, il peut survivre dans l'air jusqu'à 3 h et peut rester sur du plastique pendant 72 h, 48 h sur de l'acier inoxydable, 24 h sur du carton et 4 h sur du cuivre (van Doremalen et al., 2020). Cependant, le SRAS-CoV-2 se multiplie plus rapidement dans le corps même lorsqu'une personne infectée ne présente pas de symptômes et peut être transmis à une autre. L'OMS et d'autres organisations ont publié des directives de base pour prévenir le COVID-19, notamment (i) se laver les mains fréquemment et soigneusement, en particulier après un contact avec des personnes infectées ou leur environnement; (ii) évitez de toucher votre visage, y compris la bouche, le nez et les yeux; (iii) vous couvrir la bouche et le nez lorsque vous toussiez et éternuez; (iv) prendre la distance sociale au sérieux en se tenant à une distance de 6 pieds des autres personnes; et (v) l'auto-quarantaine en cas de maladie et le port d'un masque lorsque vous avez besoin de soins médicaux (Jin et al., 2020 ; Wang et al., 2020c). En outre, l'OMS a annoncé un document concernant les directives de biosécurité en laboratoire liées au 2019-nCoV. Les prestataires de soins de santé et les chercheurs doivent porter des masques FFP3 ou N95 et d'autres équipements de protection lorsqu'ils sont à proximité de patients COVID-19 (Wang et al., 2020). Pour les personnes en bonne santé, le port d'un masque n'est peut-être pas le meilleur moyen d'éviter de contracter une infection. Le 2019-nCoV peut probablement être sensible aux désinfectants ayant une activité prouvée contre les virus enveloppés, y compris l'eau de Javel (hypochlorite de sodium), 70% d'éthanol, 0,5% de peroxyde d'hydrogène, les composés d'ammonium quaternaire et les composés phénoliques, s'ils sont utilisés conformément aux recommandations du fabricant. D'autres agents biocides tels que 0,05 à 0,2% de chlorure de benzalkonium ou 0,02% de digluconate de chlorhexidine peuvent être moins efficaces (Infection Prevention and Control of Epidemic- and Pandemic-Prone Respiratory Infections in Health Care, 2014 ; Rabenau et al., 2005) (Shereen et al., 2020).

Volet II :

Expérimental

Objectifs d'étude

- ✓ Ce travail a pour objectif l'estimation de l'incidence cumulative de l'infection par le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2) des donneurs de sang volontaires asymptomatiques dans la région Marrakech-Safi, afin d'évaluer sa circulation dans la communauté entre mi-février et début d'aout.
- ✓ Ainsi que l'étude de la distribution des anticorps neutralisant le SRAS-CoV-2 dans la population selon l'âge, le sexe et le groupe sanguin et les identifiés comme des facteurs de risques aggravant le pronostic de la maladie.

MATERIELS ET METHODES

1. Phase préanalytique :

1.1. Cadre de l'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective, elle a été réalisée au niveau du service de Sérologie du laboratoire de Microbiologie au Centre Hospitalier Universitaire/ Marrakech (CHUM).

1.2. Population cible et échantillonnage

Les sujets inclus dans cette étude sont des donneurs de sang volontaires des différentes villes de la région Marrakech-Safi entre mi-février et aout 2020.

Au total, 6372 échantillons, sous forme de sérum ou sang veineux ont été collectés du Centre Régionale de transfusion Sanguine Marrakech.

2. Phase analytique :

1.1. Prélèvement :

Etude rétrospective : 4504 échantillons ont été dérivés d'échantillons de sérum en excès étiquetés envoyés au laboratoire de microbiologie clinique entre février et juin 2020.

Etude prospective : 1868 échantillons sous forme de prélèvement veineux sur tube EDTA, étiquetés envoyés au laboratoire de microbiologie clinique entre juillet et aout 2020. Tous les donneurs testés dans la présente étude ont fourni un consentement éclairé pour une utilisation non thérapeutique de leurs échantillons de sang.

1.2. Test IgG :

Les échantillons ont été testés sur l'instrument Abbott Architect à l'aide du test Abbott SRAS-CoV-2 IgG après la notification de la FDA suivant les instructions du fabricant. L'essai est un immunotest de microparticule chimioluminescent pour la détection qualitative d'IgG dans le sérum humain ou le plasma contre la nucléoprotéine (N) de SRAS-CoV-2. Le fabricant a signalé une sensibilité de 86 · 4% 7 jours après l'apparition des symptômes et de 100% après 14 jours, et une spécificité de 99 · 6%, en utilisant la RT-PCR comme étalon-or (Bryan et al., 2020)



Figure 15: Abbott SARS-CoV-2 IgG Reagent Kit

Principe de la technique :

Ce dosage est un dosage immunologique automatisé en deux étapes pour la détection qualitative des anticorps IgG dirigés contre le SARS-CoV-2 dans le sérum et le plasma humains utilisant la technologie de dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMIA).

L'échantillon, les microparticules paramagnétiques recouvertes d'antigène SARS-CoV-2 et le diluant de dosage sont mis en présence et incubés. Les anticorps IgG dirigés contre le SARS-CoV-2 présents dans l'échantillon se lient aux microparticules recouvertes d'antigène SARS-CoV-2. Après lavage, le conjugué d'anticorps anti-IgG humaine marquée à l'acridinium est ajoutée pour former un mélange réactionnel puis incubé. Après un autre cycle de lavage, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées.

La réaction chimiluminescente résultante est mesurée en unités relatives de lumière (URL). Il existe une relation directe entre la quantité d'anticorps IgG dirigés contre le SARS-CoV-2 présente dans l'échantillon et les URL détectées par le système optique.

Cette réaction est représentée par l'index calculé (S/C).

La présence ou l'absence d'anticorps IgG dirigés contre le SARS-CoV-2 dans l'échantillon est déterminée en comparant les URL chimiluminescente de la réaction à la valeur URL du calibrateur.

Mode opératoire :

- Avant de charger le kit de réactifs sur l'analyseur pour la première fois, le flacon de microparticules doit être homogénéisé afin de remettre en suspension les microparticules, retourner le flacon 30 fois.
- Placer un septum sur le flacon et charger le réactif.
- Calibration : chaque control de dosage doit être analysés pour évaluer la calibration du dosage.
- Control : analyser un échantillon de chaque niveau de contrôles une fois toutes les 24 heures chaque jour d'utilisation.
- Vérifier les résultats des contrôles qualité.
- Après le transport des échantillons au laboratoire, faire une centrifugation pour l'obtention du sérum et l'élimination de toute trace de fibrine.
- La plate-forme Architect nécessite un minimum de 100 µl de sérum ou de plasma.
- Placer les tubes sur les portoirs.
- Scanner les codes à barres du portoir, position et échantillons.
- Placer le portoir dans l'automate et effectuer le dosage.



Figure 16: Abbott ARCHITECT i2000SR

- Les résultats sont rapportés sous forme d'index (rapport du signal chimioluminescent entre les échantillons et un calibre)

<i>Index (S/C)</i>	Interprétation
$< 1,4$	Négatif
≥ 1.4	Positif

- Les échantillons positifs obtenus ont été conservés à 4°C.

RESULTATS

Parmi les 6395 échantillons prélevés sur des donneurs de sang au cours de la troisième semaine de février et de la première semaine d'août 2020, 6372 échantillons ont été inclus alors que 23 échantillons non conforme ont été exclus soit un pourcentage de 0,36%.

I. Description de la population :

1. Rapport des objectifs fixes et objectifs atteints :

Tableau 5: Prévalence des objectifs atteints.

	Objectifs fixes	Objectifs atteints	%
<i>Rétrospective</i>	4050	4504	111,21
<i>Prospective</i>	3700	1868	50,48
<i>Total</i>	7750	6372	82,21

Au total 7750 échantillons ont été fixés par l'équipe d'étude soit 4050 pour les échantillons rétrospectifs et 3700 pour les échantillons prospectifs, suite au confinement juste 1868 de participants dans l'étude prospective se sont présentés pour don de sang soit une prévalence de 50,48% induisant ainsi à une satisfaction de 82,21% d'objectifs fixés.

2. Type d'étude :

La répartition selon le type d'étude a révélé que le nombre d'échantillons rétrospectifs est plus important que celui d'échantillons prospectifs soit une prévalence de 70,7% versus 29,3% (figure17).

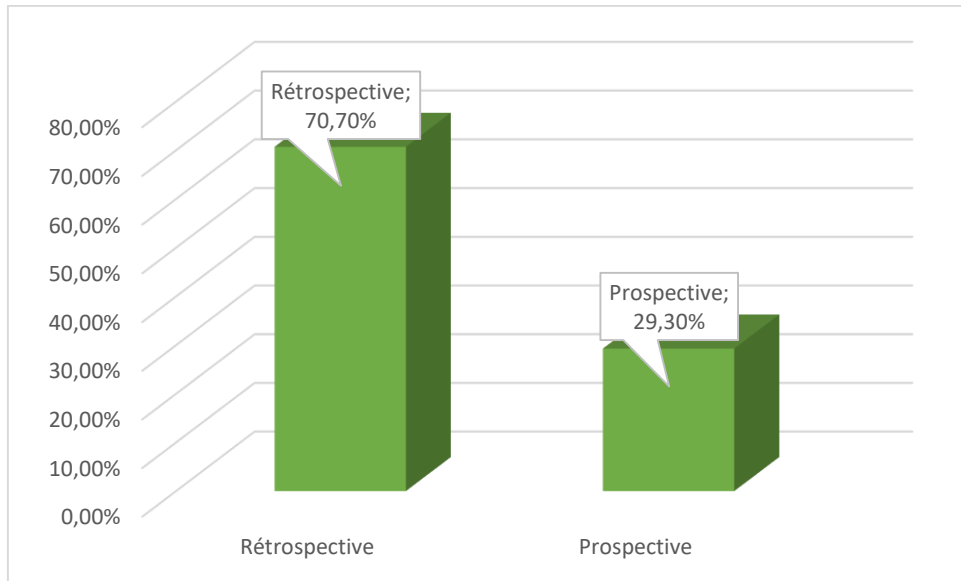


Figure 17: Répartition des échantillons selon le type d'étude.

3. Origine géographique :

L'analyse de la répartition des participants selon l'origine a permis de mettre en exergue une prépondérance des participants de la ville Marrakech, et seulement 1% provenaient de Safi (figure18).

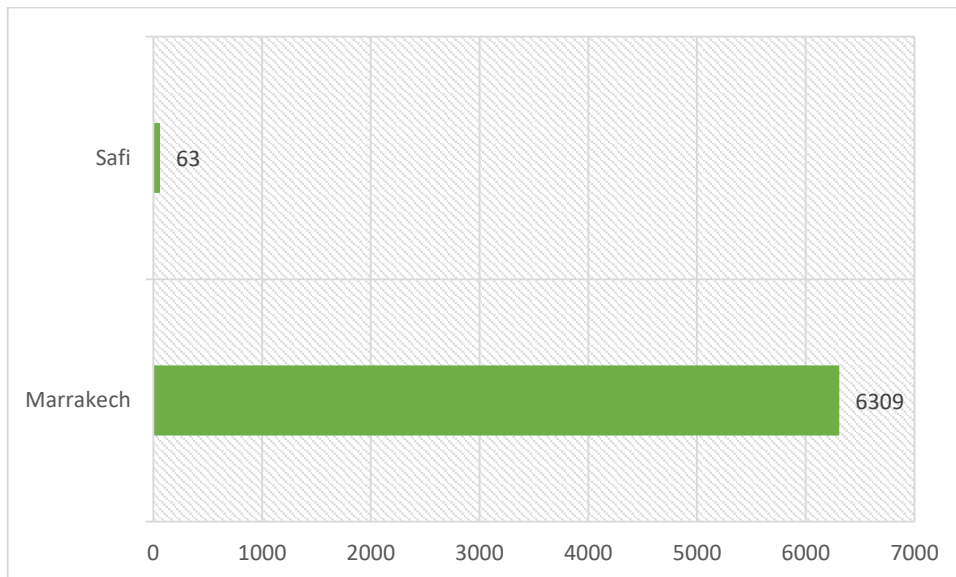


Figure 18: Distribution géographique des participants.

II. Analyse sérologique :

1. Prévalence des séropositifs Covid 19 IgG :

Tableau 6: Séroprévalence du Covid 19 IgG

Covid 19 IgG	Séroprévalence des IgG N=6372	
	Effectif	Pourcentage
Négatifs	6293	98,76
Positifs	79	1,24

Parmi les 6372 participants, seulement 79 étaient séropositifs du Covid 19 IgG soit une prévalence de 1,24%.

Tableau 7: Répartition des séropositifs Covid 19 IgG selon le type d'étude

Type d'étude	Population N=79		P
	Effectif	Pourcentage	
Rétrospective	51	64,55	0,348
Prospective	28	35,45	

La séroprévalence de Covid 19 IgG était plus élevée dans les échantillons rétrospectifs comparativement aux échantillons prospectives mais d'une façon non significative (64,55% Versus 35,35%, P=0,348).

Tableau 8: Répartition des séropositifs Covid 19 IgG selon le sexe

Sexe	Population N=79		P
	Effectif	Pourcentage	
Masculin	50	63,30	0,347
Féminin	29	36,70	

La séroprévalence de Covid 19 IgG était plus élevée chez le sexe masculin comparativement au sexe féminin mais d'une façon non significative (63,30% Versus 36,70%, P=0,347).

Tableau 9: Répartition des séropositifs Covid 19 IgG selon le sexe et type d'étude

Sexe	Population N=79		P
	Rétrospective	Prospective	
Masculin	39(49,36)	11(13,92)	0,836
Féminin	12(15,19)	17(21,52)	

L'analyse de séroprévalence Covid 19 IgG selon le sexe et type d'étude n'a révélé aucune différence statistiquement significative chez nos participants. (P=0,836).

Tableau 10: Répartition des séropositifs Covid 19 selon l'âge

	Population N=79
Age (ans)	33[20-57]

La médiane d'âge des séropositifs de notre étude était de 33 ans avec des extrêmes de 20 et 57 ans.

Tableau 11: Prévalence des séropositifs Covid 19 IgG selon l'âge

Age (ans)	Population N=79	
	Effectif	Pourcentage
20-29	35	44,3
30-39	21	26,6
40-49	15	19
50-59	8	10,1

L'analyse du tableau ci-dessus a permis de mettre en évidence une prévalence plus élevée chez les participants d'âge entre 20-29 ans (44,3%), les 30 à 39 ans (26,6%) et les 40 à 49 ans (19%) et était la plus faible chez les plus de 50 ans (10,1%).

Tableau 12: Répartition des séropositifs Covid 19 selon le groupe sanguin

Groupe sanguin	Population N=79		P
	Effectif	Pourcentage	
O+	32	40,50	0,755
A+	32	40,50	
B+	9	7,60	
AB+	6	11,40	

L'analyse du tableau ci-dessus a permis de mettre en évidence une prévalence de séropositivité similaire chez les participants du groupe sanguin A+ et O+ (40,50%), du B+ et AB+ avec une prévalence de 7,60% et 11,40% respectivement.

III. Séroprévalence Covid 19 IgG et confinement :

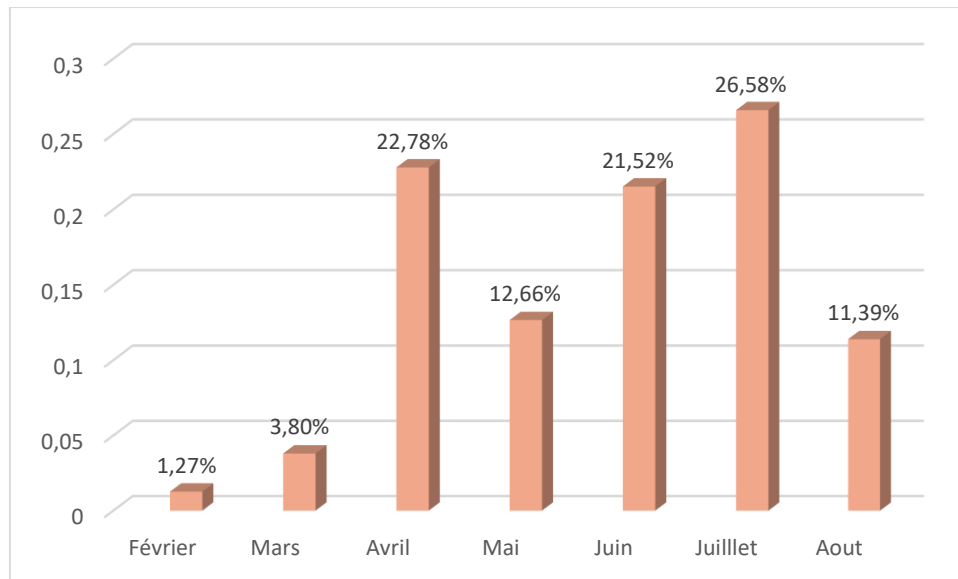


Figure 19: Répartition des séropositifs Covid 19 IgG selon la période de don

L'analyse de la figure 19 représentant la répartition des séropositifs selon la période du don a révélé que la majorité des cas positifs étaient en mois de juillet (26,58%) après la déclaration du déconfinement au Maroc suivis des mois avril, juin, mai avec des prévalences de (22,78%), (21,52%), (12,66%) respectivement. Ainsi, il a permis de mettre en évidence un cas positif de Covid 19 IgG à Marrakech à la dernière semaine du mois février avant la déclaration du premier cas au Maroc le 02/03/2020 à Casablanca.

DISCUSSION

Fin décembre 2019, une épidémie sans précédent de maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) causée par le coronavirus SRAS 2 (SARS-CoV-2) à Wuhan est devenue l'urgence sanitaire la plus difficile. Depuis sa propagation rapide en Chine et dans de nombreux autres pays, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a déclaré le COVID-19 urgence de santé publique de portée internationale (USPPI) le 30 janvier 2020 et pandémie le 11 mars 2020 (Yu et al., 2020).

L'interruption de sa transmission pour éviter une transmission communautaire généralisée est essentielle car ses effets vont au-delà du nombre de cas et de décès de COVID-19 et affectent la capacité du système de santé à fournir d'autres services essentiels (Cabore et al., 2020).

Des tests sérologiques précis et à grande échelle qui incluent la détection d'anticorps neutralisants sont essentiels pour évaluer la propagation de l'infection dans la communauté, informer les efforts de confinement de la santé publique et identifier les donneurs pour les essais de thérapie plasmatique de convalescence.

Dans ce contexte, le Ministère de Santé au Maroc, a élaboré un programme d'évaluation de la séroprévalence de SRAS-CoV-2 chez des donneurs de sang dans tous les régions du Maroc, ce travail s'inclus dans ce programme et se propose de faire d'une part, une évaluation chez les donneurs de sang de la région Marrakech-Safi, Maroc, dans la phase précoce de l'épidémie pour estimer l'incidence cumulative de l'infection par le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2), et évaluer sa circulation dans la communauté au fin février début de mars, et d'autre part, nous nous sommes demandé si la distribution des anticorps neutralisant le SRAS-CoV-2 dans la population pouvait être influencée par des paramètres démographiques ou biologiques tels que l'âge, le sexe ou le groupe sanguin et les identifiés comme des facteurs aggravant le pronostic de la maladie.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Microbiologie au CHUM sur 6372 échantillons collectés du Centre Régional de Transfusion Sanguine. L'analyse sérologique des échantillons a permis de mettre en évidence une séropositivité Covid 19 IgG chez 1,24% de nos participants, ce résultat est similaire à celui obtenu par Gallian et al (Gallian et al.,2020) en France qui ont reporté une prévalence de 2,7% sur les donneurs de sang français, et a celui de Erikstrup et al (Erikstrup et al., 2020) qui ont reporté une prévalence de 1,9%, de plus, dans une

enquête menée par Amorim et al (Amorim et al., 2020) sur les réponses anticorps pour le SRAS-CoV-2 chez les donneurs de sang brésiliens, ils ont trouvé une séroprévalence de 3,3%. Au Idaho, Bryan et al (Bryan et al., 2020) ont reporté une prévalence de 1,79% de Covid 19 IgG. Inversement, une prévalence plus élevée a été observée en Italie, ainsi sur 390 donneurs de sang recrutés après le 20 février 2020 - lorsque le premier cas de COVID-19 en Lombardie a été identifié, 91 (23%) étaient positifs aux anticorps (Percivalle et al., 2020).

Parallèlement, nous avons étudié la répartition de séroprévalence du Covid 19 IgG en fonction des caractères de la population et des facteurs associés. Concernant le sexe, la séroprévalence de Covid 19 IgG était plus élevée chez le sexe masculin comparativement au sexe féminin (63,30% Versus 36,70% ; tableau 8) mais d'une façon non significative ($P=$), semblable à ce qui a été rapporté par Pollan et al (Pollan et al., 2020) et Amorim et al (Amorim et al., 2020) qui n'ont trouvé aucune différence statistiquement significative pour le sexe.

En ce qui concerne la répartition des cas positifs selon l'âge, la prévalence était plus importante chez les moins de 30 ans (44,3%), et était plus faible chez les plus de 50 ans (10,1%) (tableau 11), notre résultat se concorde avec l'étude d'Amorim et al qui ont reporté que plus les donneurs de sang sont jeunes, plus la prévalence est élevée (Amorim et al. 2020). En France, Gallian et al ont trouvé que les valeurs de séroprévalence ne différaient pas significativement d'un groupe d'âge à l'autre, mais il a été noté qu'elles étaient légèrement plus élevées (plus de 3 %) dans les donateurs <30 yo et ≥ 60 yo, qui mérite une attention pour les études futures avec un plus grand nombre (Gallian et al., 2020).

La répartition des cas positifs selon le groupe sanguin a permis de mettre en évidence une prévalence de séropositivité similaire chez les participants du groupe sanguin A+ et O+ (40,50%), contrairement Gallian et al ont observé que la proportion de séropositives était significativement plus faible chez les donneurs du groupe O (1,32 % contre 3,86 % chez les autres donneurs, $p = 0,014$) (Gallian et al., 2020). Dans un récent rapport, Zhao et coll. (2020) ont observé que chez les patients hospitalisés chinois il y avait une sur-et-sous-représentation des groupes A et O, respectivement. Puisque seulement les patients hospitalisés ont été étudiés, ceci n'établit pas formellement si l'infection ou le phénotype de l'infection a été associé au groupe sanguin (Zhao et al., 2020). Toutefois, il a été fait valoir dans un autre article récent (Dai, 2020) que le groupe sanguin ABO ne représente pas un facteur de risque prédisposant au risque d'infection par le SRAS-CoV-2, mais prédispose plutôt à la gravité de COVID-19.

L'étude d'un plus grand nombre peut être nécessaire pour obtenir la puissance statistique adéquate.

Lorsque le confinement a été déclarée, les dons de sang et d'hémocomposants ont été interrompus dans toute le Maroc du 20 mars au 10 juin, principalement pour limiter les contacts des donneurs avec le milieu de soins afin de réduire les possibilités d'infection.

Enfin, dans le groupe d'échantillons de plasma stockés datant du 14 février au 02 mars, nous avons trouvé environ 2% d'échantillons avec des preuves de SRAS-CoV-2 IgG, suggérant une circulation antérieure inaperçue du virus dans la population avant la déclaration du premier cas au Maroc.

CONCLUSION

En conclusion, nos résultats indiquent que l'atteinte d'un niveau efficace d'immunité collective serait difficile à court terme. On ne sait pas si la réponse des anticorps neutralisants fournit l'effet requis pour prévenir de nouvelles infections. Dans le cas où une fraction seulement des individus présentant des anticorps montre des anticorps neutralisants, alors le niveau d'immunité du troupeau cible devrait être augmenté. Dans ces circonstances, le niveau souhaité d'immunité collective ne sera probablement pas atteint avant qu'un vaccin efficace ne soit disponible. Les enquêtes sérologiques sont le meilleur outil pour déterminer la propagation d'une maladie infectieuse, en particulier en présence de cas asymptomatiques ou de constatation incomplète de ceux qui présentent des symptômes.

Perspectives :

A la lumière des résultats obtenus à travers notre étude nous avons pu suggérer certaines perspectives :

- ✓ Des études de population supplémentaires (incluant différentes catégories d'individus et d'autres tests sérologiques) sont nécessaires pour mieux définir l'épidémiologie du COVID-19.
- ✓ Des investigations supplémentaires sont nécessaires pour déterminer le rôle du anticorps neutralisant dans la protection contre l'infection par le SRAS-CoV-2 ainsi que le potentiel thérapeutique du plasma hyper immun.

Limites d'étude :

Néanmoins, et à l'instar de toute autre étude, la nôtre n'a pas échappé à certaines limites qui ont influencé ses apports ainsi :

- Nous n'avons pas pu étudier la présence des anticorps IgM pour dépister les infections récentes.
- Cette étude représente uniquement les résultats de la région Marrakech-Safi, l'incorporation des résultats des autres régions du Maroc pouvait donner une vue globale sur la propagation du SRAS-CoV2 dans l'ensemble de la population.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alharbi, N. K., Qasim, I., Almasoud, A., Aljami, H. A., Alenazi, M. W., Alhafufi, A., Aldibasi, O. S., Hashem, A. M., Kasem, S., Albrahim, R., Aldubaib, M., Almansour, A., Temperton, N. J., Kupke, A., Becker, S., Abu-Obaidah, A., Alkarar, A., Yoon, I. K., Azhar, E., Lambe, T., ... Balkhy, H. H. (2019). Humoral Immunogenicity and Efficacy of a Single Dose of ChAdOx1 MERS Vaccine Candidate in Dromedary Camels. *Scientific reports*, 9(1), 16292.

Al-Tawfiq J. A. (2013). Middle East Respiratory Syndrome-coronavirus infection : an overview. *Journal of infection and public health*, 6(5), 319–322.

Amorim Filho, L., Szwarcwald, CL, Mateos, S., Leon, A., Medronho, RA, Veloso, VG, Lopes, J., Porto, L., Chieppe, A., Werneck, GL et Grupo Hemorio de Pesquisa em Covid-19 (2020). Séroprévalence de l'anti-SRAS-CoV-2 chez les donneurs de sang à Rio de Janeiro, Brésil. *Revista de saude publica*, 54, 69.

Arndt, A. L., Larson, B. J., & Hogue, B. G. (2010). A conserved domain in the coronavirus membrane protein tail is important for virus assembly. *Journal of virology*, 84(21), 11418–11428.

Ashour, H. M., Elkhatib, W. F., Rahman, M. M., & Elshabrawy, H. A. (2020). Insights into the Recent 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) in Light of Past Human Coronavirus Outbreaks. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(3), 186.

Attwood, L. O., Francis, M. J., Hamblin, J., Korman, T. M., Druce, J., & Graham, M. (2020). Clinical evaluation of AusDiagnostics SARS-CoV-2 multiplex tandem PCR assay. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 128, 104448.

Azhar, E. I., El-Kafrawy, S. A., Farraj, S. A., Hassan, A. M., Al-Saeed, M. S., Hashem, A. M., & Madani, T. A. (2014). Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. *New England Journal of Medicine*, 370(26), 2499-2505.

Azhar, E. I., Hashem, A. M., El-Kafrawy, S. A., Sohrab, S. S., Aburizaiza, A. S., Farraj, S. A., Hassan, A. M., Al-Saeed, M. S., Jamjoom, G. A., & Madani, T. A. (2014). Detection of the Middle East respiratory syndrome coronavirus genome in an air sample originating from a camel barn owned by an infected patient. *mBio*, 5(4), e01450-14.

Azhar, E. I., Hui, D., Memish, Z. A., Drosten, C., & Zumla, A. (2019). The Middle East Respiratory Syndrome (MERS). *Infectious disease clinics of North America*, 33(4), 891–905.

Baek, W. K., Sohn, S. Y., Mahgoub, A., & Hage, R. (2020). A Comprehensive Review of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. *Cureus*, 12(5), e7943.

Bai, H., Cai, X., & Zhang, X. (2020). Landscape Coronavirus Disease 2019 test (COVID-19 test) in vitro--A comparison of PCR vs Immunoassay vs Crispr-Based test.

Beijing Group of National Research Project for SARS (2003). Dynamic changes in blood cytokine levels as clinical indicators in severe acute respiratory syndrome. *Chinese medical journal*, 116(9), 1283–1287.

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.

Ben Hassen, H., Elaoud, A., Ben Salah, N., et Masmoudi, A. (2020). Un modèle SIR-Poisson pour COVID-19 : évolution et inférence de transmission dans les régions centrales du Maghreb. *Revue arabe pour la science et l'ingénierie*, 1–10. Publication en ligne anticipée. <https://doi.org/10.1007/s13369-020-04792->

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.

Bhatti, JS, Bhatti, GK, Khullar, N., Reddy, AP et Reddy, PH (2020). Stratégies thérapeutiques dans le développement de médicaments antiviraux et de vaccins contre l'infection par le SRAS-CoV-2. *Neurobiologie moléculaire*, 57 (11), 4856–4877.

Bisht, H., Roberts, A., Vogel, L., Bukreyev, A., Collins, P. L., Murphy, B. R., Subbarao, K., & Moss, B. (2004). Severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein expressed by attenuated vaccinia virus protectively immunizes mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(17), 6641–6646.

Bisht, H., Roberts, A., Vogel, L., Subbarao, K., & Moss, B. (2005). Neutralizing antibody and protective immunity to SARS coronavirus infection of mice induced by a soluble recombinant polypeptide containing an N-terminal segment of the spike glycoprotein. *Virology*, 334(2), 160-165.

Bonny, V., Maillard, A., Mousseaux, C., Plaçais, L., & Richier, Q. (2020). COVID-19 : physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages (COVID-19) : [Pathogenesis of a multi-faceted disease]. *La Revue de medecine interne*, 41(6), 375–389.

Booth, C. M., Matukas, L. M., Tomlinson, G. A., Rachlis, A. R., Rose, D. B., Dwosh, H. A., Walmsley, S. L., Mazzulli, T., Avendano, M., Derkach, P., Ephtimios, I. E., Kitai, I., Mederski, B. D., Shadowitz, S. B., Gold, W. L., Hawryluck, L. A., Rea, E., Chenkin, J. S., Cescon, D. W., Poutanen, S. M., ... Detsky, A. S. (2003). Clinical features and short-term outcomes of 144 patients with SARS in the greater Toronto area. *JAMA*, 289(21), 2801–2809.

Broughton, J. P., Deng, X., Yu, G., Fasching, C. L., Servellita, V., Singh, J., ... & Zorn, K. (2020). CRISPR–Cas12-based detection of SARS-CoV-2. *Nature Biotechnology*, 1-5.

Bryan, A., Pepper, G., Wener, M. H., Fink, S. L., Morishima, C., Chaudhary, A., Jerome, K. R., Mathias, P. C., & Greninger, A. L. (2020). Performance Characteristics of the Abbott

Architect SARS-CoV-2 IgG Assay and Seroprevalence in Boise, Idaho. *Journal of clinical microbiology*, 58(8), e00941-20.

Buchholz, U. J., Bukreyev, A., Yang, L., Lamirande, E. W., Murphy, B. R., Subbarao, K., & Collins, P. L. (2004). Contributions of the structural proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus to protective immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(26), 9804–9809.

Bukreyev, A., Lamirande, E. W., Buchholz, U. J., Vogel, L. N., Elkins, W. R., St Claire, M., Murphy, B. R., Subbarao, K., & Collins, P. L. (2004). Mucosal immunisation of African green monkeys (*Cercopithecus aethiops*) with an attenuated parainfluenza virus expressing the SARS coronavirus spike protein for the prevention of SARS. *Lancet (London, England)*, 363(9427), 2122–2127.

Cabore, J. W., Karamagi, H.C., Kipruto, H., Asamani, J. A., Droti, B., Seydi, A., Titi-Ofei, R., Impouma, B., Yao, M., Yoti, Z., Zawaira, F., Tumusiime, P., Talisuna, A., Kasolo, F.C., & Moeti, M. R. (2020). Les effets potentiels de la transmission communautaire généralisée de l'infection par le SRAS-CoV-2 dans la Région africaine de l'Organisation mondiale de la santé : un modèle prédictif. *BMJ global health*, 5(5), e002647.

Cai, X. F., Chen, J., Li Hu, J., Long, Q. X., Deng, H. J., Liu, P., Fan, K., Liao, P., Liu, B. Z., Wu, G. C., Chen, Y. K., Li, Z. J., Wang, K., Zhang, X. L., Tian, W. G., Xiang, J. L., Du, H. X., Wang, J., Hu, Y., Tang, N., ... Wang, D. Q. (2020). A Peptide-Based Magnetic Chemiluminescence Enzyme Immunoassay for Serological Diagnosis of Coronavirus Disease 2019. *The Journal of infectious diseases*, 222(2), 189–193.

Cameron, M. J., Ran, L., Xu, L., Danesh, A., Bermejo-Martin, J. F., Cameron, C. M., Muller, M. P., Gold, W. L., Richardson, S. E., Poutanen, S. M., Willey, B. M., DeVries, M. E., Fang, Y., Seneviratne, C., Bosinger, S. E., Persad, D., Wilkinson, P., Greller, L. D., Somogyi, R., Humar, A., ... Kelvin, D. J. (2007). Interferon-mediated immunopathological events are associated with atypical innate and adaptive immune responses in patients with severe acute respiratory syndrome. *Journal of virology*, 81(16), 8692–8706.

Cascella M., Rajnik M., Cuomo A., Dulebohn SC, Di Napoli R. (2020). Caractéristiques, évaluation et traitement du coronavirus (COVID-19).

Catalan-Dibene J. (2020). Human antibodies can neutralize SARS-CoV-2. *Nature reviews. Immunology*, 20(6), 350.

Chan, J. F., Lau, S. K., & Woo, P. C. (2013). The emerging novel Middle East respiratory syndrome coronavirus : the "knowns" and "unknowns". *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi*, 112(7), 372–381.

Chan, J. F., Yip, C. C., To, K. K., Tang, T. H., Wong, S. C., Leung, K. H., Fung, A. Y., Ng, A. C., Zou, Z., Tsoi, H. W., Choi, G. K., Tam, A. R., Cheng, V. C., Chan, K. H., Tsang, O. T., &

- Yuen, K. Y. (2020). Improved Molecular Diagnosis of COVID-19 by the Novel, Highly Sensitive and Specific COVID-19-RdRp/Hel Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay Validated In Vitro and with Clinical Specimens. *Journal of clinical microbiology*, 58(5), e00310-20.
- Chang, C. K., Sue, S. C., Yu, T. H., Hsieh, C. M., Tsai, C. K., Chiang, Y. C., Lee, S. J., Hsiao, H. H., Wu, W. J., Chang, W. L., Lin, C. H., & Huang, T. H. (2006). Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. *Journal of biomedical science*, 13(1), 59–72.
- Chang, Lin M, Wei L, Xie L, Zhu G, Dela Cruz CS, Sharma L
CHEN J LD, LIU L, LIU P, XU Q, XIA L, LING Y, HUANG D, SONG S, ZHANG D, QIAN Z, LI T, SHEN Y, LU H. A pilot study of hydroxychloroquine in treatment of patients with common coronavirus disease-19 (COVID-19) J Zhejiang Univ (Med Sci) 2020. 49.
- Chen, Y., Liu, Q., & Guo, D. (2020). Emerging coronaviruses : Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of medical virology*, 92(4), 418–423.
- Cheng, C. Y., Lee, Y. L., Chen, C. P., Lin, Y. C., Liu, C. E., Liao, C. H., & Cheng, S. H. (2020). Lopinavir/ritonavir did not shorten the duration of SARS CoV-2 shedding in patients with mild pneumonia in Taiwan. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, 53(3), 488–492.
- Chu, C. M., Cheng, V. C., Hung, I. F., Wong, M. M., Chan, K. H., Chan, K. S., Kao, R. Y., Poon, L. L., Wong, C. L., Guan, Y., Peiris, J. S., Yuen, K. Y., & HKU/UCH SARS Study Group (2004). Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS : initial virological and clinical findings. *Thorax*, 59(3), 252–256.
- Chu, D., Pan, Y., Cheng, S., Hui, K., Krishnan, P., Liu, Y., Ng, D., Wan, C., Yang, P., Wang, Q., Peiris, M., & Poon, L. (2020). Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clinical chemistry*, 66(4), 549–555.
- Conzade, R., Grant, R., Malik, M. R., Elkholy, A., Elhakim, M., Samhoury, D., Ben Embarek, P. K., & Van Kerkhove, M. D. (2018). Reported Direct and Indirect Contact with Dromedary Camels among Laboratory-Confirmed MERS-CoV Cases. *Viruses*, 10(8), 425.
- Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Schmidt, M. L., Mulders, D. G., Haagmans, B. L., van der Veer, B., van den Brink, S., Wijsman, L., Goderski, G., Romette, J. L., Ellis, J., Zambon, M., Peiris, M., ... Drosten, C. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 25(3), 2000045.
- Coutard, B., Valle, C., de Lamballerie, X., Canard, B., Seidah, N. G., & Decroly, E. (2020). The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral research*, 176, 104742.

- Cui, F., & Zhou, H. S. (2020). Diagnostic methods and potential portable biosensors for coronavirus disease 2019. *Biosensors & bioelectronics*, 165, 112349.
- Cui, J., Li, F., & Shi, Z. L. (2019). Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature reviews. Microbiology*, 17(3), 181–192.
- Cui, L., Wang, H., Ji, Y., Yang, J., Xu, S., Huang, X., Wang, Z., Qin, L., Tien, P., Zhou, X., Guo, D., & Chen, Y. (2015). The Nucleocapsid Protein of Coronaviruses Acts as a Viral Suppressor of RNA Silencing in Mammalian Cells. *Journal of virology*, 89(17), 9029–9043.
- Dai X. (2020). ABO blood group predisposes to COVID-19 severity and cardiovascular diseases. *European journal of preventive cardiology*, 27(13), 1436–1437.
- Datta, PK, Liu, F., Fischer, T., Rappaport, J., et Qin, X. (2020). Pandémie du SRAS-CoV-2 et lacunes de la recherche : Comprendre l'interaction du SRAS-CoV-2 avec le récepteur ACE2 et ses implications pour la thérapie. *Theranostics* , 10 (16), 7448–7464.
- De Wilde, A. H., Snijder, E. J., Kikkert, M., & van Hemert, M. J. (2018). Host Factors in Coronavirus Replication. *Current topics in microbiology and immunology*, 419, 1–42.
- De Wit, E., van Doremalen, N., Falzarano, D., & Munster, V. J. (2016). SARS and MERS : recent insights into emerging coronaviruses. *Nature reviews. Microbiology*, 14(8), 523–534.
- DeDiego, M. L., Alvarez, E., Almazán, F., Rejas, M. T., Lamirande, E., Roberts, A., Shieh, W. J., Zaki, S. R., Subbarao, K., & Enjuanes, L. (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.
- Dhama, K., Khan, S., Tiwari, R., Sircar, S., Bhat, S., Malik, Y. S., Singh, K. P., Chaicumpa, W., Bonilla-Aldana, D. K., & Rodriguez-Morales, A. J. (2020). Coronavirus Disease 2019-COVID-19. *Clinical microbiology reviews*, 33(4), e00028-20.
- Ding, X., Yin, K., Li, Z., & Liu, C. (2020). All-in-One dual CRISPR-cas12a (AIOD-CRISPR) assay: a case for rapid, ultrasensitive and visual detection of novel coronavirus SARS-CoV-2 and HIV virus. *bioRxiv*.
- Donnelly, C. A., Ghani, A. C., Leung, G. M., Hedley, A. J., Fraser, C., Riley, S., Abu-Raddad, L. J., Ho, L. M., Thach, T. Q., Chau, P., Chan, K. P., Lam, T. H., Tse, L. Y., Tsang, T., Liu, S. H., Kong, J. H., Lau, E. M., Ferguson, N. M., & Anderson, R. M. (2003). Epidemiological determinants of spread of causal agent of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *Lancet (London, England)*, 361(9371), 1761–1766.
- Dowd, S. E., Halonen, M. J., & Maier, R. M. (2009). *Immunological Methods. In Environmental Microbiology* (pp. 225-241). Academic Press.
- Drexler, J. F., Gloza-Rausch, F., Glende, J., Corman, V. M., Muth, D., Goettsche, M., Seebens, A., Niedrig, M., Pfefferle, S., Yordanov, S., Zhelyazkov, L., Hermanns, U., Vallo, P., Lukashev, A., Müller, M. A., Deng, H., Herrler, G., & Drosten, C. (2010). Genomic characterization of

severe acute respiratory syndrome-related coronavirus in European bats and classification of coronaviruses based on partial RNA-dependent RNA polymerase gene sequences. *Journal of virology*, 84(21), 11336–11349.

Dwosh, H. A., Hong, H. H., Austgarden, D., Herman, S., & Schabas, R. (2003). Identification and containment of an outbreak of SARS in a community hospital. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, 168(11), 1415–1420.

El-Duah, P., Sylverken, A., Owusu, M., Yeboah, R., Lamptey, J., Frimpong, Y. O., Burimuah, V., Antwi, C., Folitse, R., Agbenyega, O., Oppong, S., & Adu-Sarkodie, Y. (2019). Potential Intermediate Hosts for Coronavirus Transmission : No Evidence of Clade 2c Coronaviruses in Domestic Livestock from Ghana. *Tropical medicine and infectious disease*, 4(1), 34.

Epidemiol Health. 2020. Caractéristiques épidémiologiques des premiers cas de maladie à nouveau coronavirus 2019 (2019-nCoV) en Corée. 42 : e2020007.

Erikstrup, C., Hother, CE, Pedersen, O., Mølbak, K., Skov, RL, Holm, DK, Sækmose, SG, Nilsson, AC, Brooks, PT, Boldsen, JK, Mikkelsen, C., Gybel- Brask, M., Sørensen, E., Dinh, KM, Mikkelsen, S., Møller, BK, Haunstrup, T., Harritshøj, L., Jensen, BA, Hjalgrim, H., Ullum, H. (2020). Estimation du taux de mortalité par infection au SRAS-CoV-2 par dépistage en temps réel des anticorps des donneurs de sang. *Maladies infectieuses cliniques : une publication officielle de l'Infectious Diseases Society of America*, c1aa849. Publication en ligne anticipée.

Falzarano, D., Kamissoko, B., de Wit, E., Maïga, O., Cronin, J., Samaké, K., Traoré, A., Milne-Price, S., Munster, V. J., Sogoba, N., Niang, M., Safronetz, D., & Feldmann, H. (2017). Dromedary camels in northern Mali have high seropositivity to MERS-CoV. *One health (Amsterdam, Netherlands)*, 3, 41–43.

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.

Farag, E., Sikkema, R. S., Mohamedani, A. A., De Bruin, E., Munnink, B. B. O., Chandler, F., ... & Van Den Brand, J. M. (2019). MERS-CoV in camels but not camel handlers, Sudan, 2015 and 2017. *Emerging infectious diseases*, 25(12), 2333.

Fehr, A. R., & Perlman, S. (2015). Coronaviruses : an overview of their replication and pathogenesis. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1282, 1–23.

Ferrario, C. M., Jessup, J., Chappell, M. C., Averill, D. B., Brosnihan, K. B., Tallant, E. A., ... & Gallagher, P. E. (2005). Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. *Circulation*, 111(20), 2605–2610.

Forni, D., Cagliani, R., Clerici, M., & Sironi, M. (2017). Molecular Evolution of Human Coronavirus Genomes. *Trends in microbiology*, 25(1), 35–48.

Fung, T. S., & Liu, D. X. (2019). Human coronavirus : host-pathogen interaction. *Annual review of microbiology*, 73, 529-557.

Gallian, P., Pastorino, B., Morel, P., Chiaroni, J., Ninove, L., & de Lamballerie, X. (2020). Prévalence plus faible des anticorps neutralisant le SRAS-CoV-2 dans le groupe O Français donneurs de sang. *Recherche antivirale*, 181, 104880.

Ge, X. Y., Li, J. L., Yang, X. L., Chmura, A. A., Zhu, G., Epstein, J. H., Mazet, J. K., Hu, B., Zhang, W., Peng, C., Zhang, Y. J., Luo, C. M., Tan, B., Wang, N., Zhu, Y., Crameri, G., Zhang, S. Y., Wang, L. F., Daszak, P., & Shi, Z. L. (2013). Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. *Nature*, 503(7477), 535–538.

Gheblawi, M., Wang, K., Viveiros, A., Nguyen, Q., Zhong, J. C., Turner, A. J., Raizada, M. K., Grant, M. B., & Oudit, G. Y. (2020). Angiotensin-Converting Enzyme 2 : SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System : Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. *Circulation research*, 126(10), 1456–1474.

Gorzalski, A. J., Tian, H., Laverdure, C., Morzunov, S., Verma, S. C., VanHooser, S., & Pandori, M. W. (2020). High-Throughput Transcription-mediated amplification on the Hologic Panther is a highly sensitive method of detection for SARS-CoV-2. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 129, 104501.

Grein, J., Ohmagari, N., Shin, D., Diaz, G., Asperges, E., Castagna, A., Feldt, T., Green, G., Green, M. L., Lescure, F. X., Nicastri, E., Oda, R., Yo, K., Quiros-Roldan, E., Studemeister, A., Redinski, J., Ahmed, S., Bernett, J., Chelliah, D., Chen, D., ... Flanagan, T. (2020). Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19. *The New England journal of medicine*, 382(24), 2327–2336.

Guan, Y., Zheng, B. J., He, Y. Q., Liu, X. L., Zhuang, Z. X., Cheung, C. L., Luo, S. W., Li, P. H., Zhang, L. J., Guan, Y. J., Butt, K. M., Wong, K. L., Chan, K. W., Lim, W., Shortridge, K. F., Yuen, K. Y., Peiris, J. S., & Poon, L. L. (2003). Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science (New York, N.Y.)*, 302(5643), 276–278.

Guo, G., Ye, L., Pan, K., Chen, Y., Xing, D., Yan, K., Chen, Z., Ding, N., Li, W., Huang, H., Zhang, L., Li, X., et Xue, X. (2020). Nouvelles perspectives sur l'émergence du SRAS-CoV-2 : épidémiologie, étiologie, caractéristiques cliniques, traitement clinique et prévention. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 410.

Hassan, S. A., Sheikh, F. N., Jamal, S., Ezeh, J. K., & Akhtar, A. (2020). Coronavirus (COVID-19) : A Review of Clinical Features, Diagnosis, and Treatment. *Cureus*, 12(3), e7355.

Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann,

S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8.

Hofmann, W. P., Dries, V., Herrmann, E., Gärtner, B., Zeuzem, S., & Sarrazin, C. (2005). Comparison of transcription mediated amplification (TMA) and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) for detection of hepatitis C virus RNA in liver tissue. *Journal of clinical virology*, 32(4), 289-293.

Hong, T. C., Mai, Q. L., Cuong, D. V., Parida, M., Minekawa, H., Notomi, T., Hasebe, F., & Morita, K. (2004). Development and evaluation of a novel loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Journal of clinical microbiology*, 42(5), 1956–1961.

Hozhabri, H., Piceci Sparascio, F., Sohrabi, H., Mousavifar, L., Roy, R., Scribano, D., De Luca, A., Ambrosi, C., & Sarshar, M. (2020). The Global Emergency of Novel Coronavirus (SARS-CoV-2): An Update of the Current Status and Forecasting. *International journal of environmental research and public health*, 17(16), 5648.

<http://www.covidmaroc.ma/pages/Accueilfr.aspx>

Hu, D., Zhu, Z., Li, S., Deng, Y., Wu, Y., Zhang, N., Puri, V., Wang, C., Zou, P., Lei, C., Tian, X., Wang, Y., Zhao, Q., Li, W., Prabakaran, P., Feng, Y., Cardoso, J., Qin, C., Zhou, X., Dimitrov, D. S., ... Ying, T. (2019). A broadly neutralizing germline-like human monoclonal antibody against dengue virus envelope domain III. *PLoS pathogens*, 15(6), e1007836.

Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., Xiao, Y., ... Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet (London, England)*, 395(10223), 497–506.

Huang, Z., Hu, S., Xiong, Y., Wei, H., Xu, H., Duan, H., & Lai, W. (2019). Application and development of superparamagnetic nanoparticles in sample pretreatment and immunochromatographic assay. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 114, 151-170.

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.

Int Forum Allergy Rhinol. 2020 Jul. Association d'un dysfonctionnement chimiosensoriel et du COVID-19 chez les patients présentant des symptômes pseudo-grippaux. 10 (7) : 806-813.

Jalandra, R., Yadav, A. K., Verma, D., Dalal, N., Sharma, M., Singh, R., Kumar, A., & Solanki, P. R. (2020). Strategies and perspectives to develop SARS-CoV-2 detection methods and diagnostics. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 129, 110446.

JAMA. 17 mars 2020. Caractéristiques épidémiologiques et cliniques des nouvelles infections à coronavirus impliquant 13 patients en dehors de Wuhan, Chine. 323 (11) : 1092-1093.

Jia, H. P., Look, D. C., Tan, P., Shi, L., Hickey, M., Gakhar, L., Chappell, M. C., Wohlford-Lenane, C., & McCray, P. B., Jr (2009). Ectodomain shedding of angiotensin converting enzyme 2 in human airway epithelia. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 297(1), L84–L96.

Jia, H. P., Look, D. C., Tan, P., Shi, L., Hickey, M., Gakhar, L., Chappell, M. C., Wohlford-Lenane, C., & McCray, P. B., Jr (2009). Ectodomain shedding of angiotensin converting enzyme 2 in human airway epithelia. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 297(1), L84–L96.

Kam Y.W., Kien F., Roberts A., Cheung Y.C., Lamirande E.W., Vogel L. Antibodies against trimeric S glycoprotein protect hamsters against SARS-CoV challenge despite their capacity to mediate FcγRII-dependent entry into B cells in vitro. *Vaccine*. 2007 ; 25(4) :729–740.

Kandeil, A., Gomaa, M., Nageh, A., Shehata, M. M., Kayed, A. E., Sabir, J., Abiadh, A., Jrijer, J., Amr, Z., Said, M. A., Byarugaba, D. K., Wabwire-Mangen, F., Tugume, T., Mohamed, N. S., Attar, R., Hassan, S. M., Linjawi, S. A., Moatassim, Y., Kutkat, O., Mahmoud, S., ... Kayali, G. (2019). Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) in Dromedary Camels in Africa and Middle East. *Viruses*, 11(8), 717.

Kapadia, S. U., Rose, J. K., Lamirande, E., Vogel, L., Subbarao, K., & Roberts, A. (2005). Long-term protection from SARS coronavirus infection conferred by a single immunization with an attenuated VSV-based vaccine. *Virology*, 340(2), 174–182.

Krauss, H., Weber, A., Appel, M., Enders, B., Isenberg, H. D., Schiefer, H. G., ... & Zahner, H. (2003). *Zoonoses : infectious diseases transmissible from animals to humans* (p. 456). Washington, DC : ASM press.

Kuba, K., Imai, Y., Ohto-Nakanishi, T., & Penninger, J. M. (2010). Trilogy of ACE2 : a peptidase in the renin-angiotensin system, a SARS receptor, and a partner for amino acid transporters. *Pharmacology & therapeutics*, 128(1), 119–128.

Lam, T. T. Y., Jia, N., Zhang, Y. W., Shum, M. H. H., Jiang, J. F., Zhu, H. C., ... & Li, W. J. (2020). Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*, 1-4.

Lamb, L. E., Bartolone, S. N., Ward, E., & Chancellor, M. B. (2020). Rapid detection of novel coronavirus/Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *PloS one*, 15(6), e0234682.

Lau, S. K., Woo, P. C., Li, K. S., Huang, Y., Tsoi, H. W., Wong, B. H., Wong, S. S., Leung, S. Y., Chan, K. H., & Yuen, K. Y. (2005). Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(39), 14040–14045.

Lau, S., Li, K., Luk, H., He, Z., Teng, J., Yuen, K. Y., Wernery, U., & Woo, P. (2020). Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Antibodies in Bactrian and Hybrid Camels from Dubai. *mSphere*, 5(1), e00898-19.

- Lee, C. Y., Lin, R., Renia, L., & Ng, L. (2020). Serological Approaches for COVID-19 : Epidemiologic Perspective on Surveillance and Control. *Frontiers in immunology*, 11, 879.
- Lee, N., Hui, D., Wu, A., Chan, P., Cameron, P., Joynt, G. M., Ahuja, A., Yung, M. Y., Leung, C. B., To, K. F., Lui, S. F., Szeto, C. C., Chung, S., & Sung, J. J. (2003). A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *The New England journal of medicine*, 348(20), 1986–1994.
- Li F. (2016). Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annual review of virology*, 3(1), 237–261.
- Li, W., Shi, Z., Yu, M., Ren, W., Smith, C., Epstein, J. H., Wang, H., Crameri, G., Hu, Z., Zhang, H., Zhang, J., McEachern, J., Field, H., Daszak, P., Eaton, B. T., Zhang, S., & Wang, L. F. (2005). Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science (New York, N.Y.)*, 310(5748), 676–679.
- Li, X., Song, Y., Wong, G., & Cui, J. (2020). Bat origin of a new human coronavirus : there and back again. *Science China. Life sciences*, 63(3), 461–462.
- Li, Z., Yi, Y., Luo, X., Xiong, N., Liu, Y., Li, S., Sun, R., Wang, Y., Hu, B., Chen, W., Zhang, Y., Wang, J., Huang, B., Lin, Y., Yang, J., Cai, W., Wang, X., Cheng, J., Chen, Z., Sun, K., ... Ye, F. (2020). Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *Journal of medical virology*, 10.1002/jmv.25727. Advance online publication.
- Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., Chen, J., ... Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus : implications for virus origins and receptor binding. *Lancet (London, England)*, 395(10224), 565–574.
- Martzy, R., Kolm, C., Krska, R., Mach, R. L., Farnleitner, A. H., & Reischer, G. H. (2019). Challenges and perspectives in the application of isothermal DNA amplification methods for food and water analysis. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 411(9), 1695–1702.
- Matsuyama, S., Nagata, N., Shirato, K., Kawase, M., Takeda, M., & Taguchi, F. (2010). Efficient activation of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein by the transmembrane protease TMPRSS2. *Journal of virology*, 84(24), 12658–12664.
- McBride, R., van Zyl, M., & Fielding, B. C. (2014). The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses*, 6(8), 2991–3018.
- McKay, BLP Drugmakers se précipitent pour développer des vaccins contre le virus de la Chine, le Wall Street Journal. Inovio, I. P. Inovio selected by cepi to develop vaccine against new coronavirus inovio.
- Meng, J., Xiao, G., Zhang, J., He, X., Ou, M., Bi, J., Yang, R., Di, W., Wang, Z., Li, Z., Gao, H., Liu, L., & Zhang, G. (2020). Renin-angiotensin system inhibitors improve the clinical

outcomes of COVID-19 patients with hypertension. *Emerging microbes & infections*, 9(1), 757–760.

Miguel, E., Chevalier, V., Ayelet, G., Ben Bencheikh, M. N., Boussini, H., Chu, D. K., El Berbri, I., Fassi-Fihri, O., Faye, B., Fekadu, G., Grosbois, V., Ng, B. C., Perera, R. A., So, T. Y., Traore, A., Roger, F., & Peiris, M. (2017). Risk factors for MERS coronavirus infection in dromedary camels in Burkina Faso, Ethiopia, and Morocco, 2015. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 22(13), 30498.

Mohapatra, R. K., Pintilie, L., Kandi, V., Sarangi, A. K., Das, D., Sahu, R., & Perekhoda, L. (2020). The recent challenges of highly contagious COVID-19, causing respiratory infections : Symptoms, diagnosis, transmission, possible vaccines, animal models, and immunotherapy. *Chemical biology & drug design*, 10.1111/cbdd.13761. Advance online publication.

Nal, B., Chan, C., Kien, F., Siu, L., Tse, J., Chu, K., Kam, J., Staropoli, I., Crescenzo-Chaigne, B., Escriou, N., van der Werf, S., Yuen, K. Y., & Altmeyer, R. (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.

Neerukonda, SN et Katneni, U. (2020). Une revue sur la virologie, la physiopathologie, les modèles animaux et les interventions anti-virales du SRAS-CoV-2. *Pathogens (Bâle, Suisse)*, 9 (6), 426.

Neuman, B. W., Kiss, G., Kunding, A. H., Bhella, D., Baksh, M. F., Connelly, S., Droese, B., Klaus, J. P., Makino, S., Sawicki, S. G., Siddell, S. G., Stamou, D. G., Wilson, I. A., Kuhn, P., & Buchmeier, M. J. (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., Verdiá-Báguena, C., Jimenez-Guardeño, J. M., Regla-Nava, J. A., Fernandez-Delgado, R., Castaño-Rodriguez, C., Alcaraz, A., Torres, J., Aguilella, V. M., & Enjuanes, L. (2014). Severe acute respiratory syndrome coronavirus envelope protein ion channel activity promotes virus fitness and pathogenesis. *PLoS pathogens*, 10(5), e1004077.

Organisation mondiale de la Santé (2020) Coronavirus disease 2019 (COVID-19) : situation report

Pang, J., Wang, MX, Ang, IYH, Tan, SHX, Lewis, RF, Chen, JIP, ... et Ng, XY (2020). Diagnostic rapide potentiel, vaccin et thérapeutique pour le nouveau coronavirus 2019 (2019-nCoV): une revue systématique. *Journal de médecine clinique*, 9 (3), 623.

Park, G. S., Ku, K., Baek, S. H., Kim, S. J., Kim, S. I., Kim, B. T., & Maeng, J. S. (2020). Development of Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays Targeting Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *The Journal of molecular diagnostics : JMD*, 22(6), 729–735.

Peiris, J. S., Lai, S. T., Poon, L. L., Guan, Y., Yam, L. Y., Lim, W., Nicholls, J., Yee, W. K., Yan, W. W., Cheung, M. T., Cheng, V. C., Chan, K. H., Tsang, D. N., Yung, R. W., Ng, T. K., Yuen, K. Y., & SARS study group (2003). Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* (London, England), 361(9366), 1319–1325.

Percivalle, E., Cambiè, G., Cassaniti, I., Nepita, E. V., Maserati, R., Ferrari, A., Di Martino, R., Isernia, P., Mojoli, F., Bruno, R., Tirani, M., Cereda, D., Nicora, C., Lombardo, M., et Baldanti, F. (2020). Prévalence des anticorps neutralisants spécifiques du SRAS-CoV-2 chez les donneurs de sang de la zone rouge de Lodi en Lombardie, Italie, au 06 avril 2020. *Euro surveillance : bulletin Européen sur les maladies transmissibles = Bulletin européen des maladies transmissibles*, 25 (24), 2001031.

Perera, R. A., Wang, P., Gomaa, M. R., El-Shesheny, R., Kandeil, A., Bagato, O., ... & Li, M. (2013). Seroepidemiology for MERS coronavirus using microneutralisation and pseudoparticle virus neutralisation assays reveal a high prevalence of antibody in dromedary camels in Egypt, June 2013. *Eurosurveillance*, 18(36), 20574.

Pervushin, K., Tan, E., Parthasarathy, K., Lin, X., Jiang, F. L., Yu, D., Vararattanavech, A., Soong, T. W., Liu, D. X., & Torres, J. (2009). Structure and inhibition of the SARS coronavirus envelope protein ion channel. *PLoS pathogens*, 5(7), e1000511.

Pinto, D., Park, Y. J., Beltramello, M., Walls, A. C., Tortorici, M. A., Bianchi, S., Jaconi, S., Culap, K., Zatta, F., De Marco, A., Peter, A., Guarino, B., Spreafico, R., Cameroni, E., Case, J. B., Chen, R. E., Havenar-Daughton, C., Snell, G., Telenti, A., Virgin, H. W., ... Corti, D. (2020). Cross-neutralization of SARS-CoV-2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody. *Nature*, 583(7815), 290–295.

Pollán, M., Pérez-Gómez, B., Pastor-Barriuso, R., Oteo, J., Hernán, M. A., Pérez-Olmeda, M., Sanmartín, J. L., Fernández-García, A., Cruz, I., Fernández de Larrea, N., Molina, M., Rodríguez-Cabrera, F., Martín, M., Merino-Amador, P., León Paniagua, J., Muñoz-Montalvo, J. F., Blanco, F., Yotti, R., & Groupe d'étude ENE-COVID (2020). Prévalence du SRAS-CoV-2 en Espagne (ENE-COVID) : une étude séro-épidémiologique nationale basée sur la population. *Lancet (Londres, Angleterre)*, 396 (10250), 535–544.

Qin, E., Shi, H., Tang, L., Wang, C., Chang, G., Ding, Z., Zhao, K., Wang, J., Chen, Z., Yu, M., Si, B., Liu, J., Wu, D., Cheng, X., Yang, B., Peng, W., Meng, Q., Liu, B., Han, W., Yin, X., ... Zhu, Q. (2006). Immunogenicity and protective efficacy in monkeys of purified inactivated Vero-cell SARS vaccine. *Vaccine*, 24(7), 1028–1034.

Qiu, X., Wong, G., Audet, J., Bello, A., Fernando, L., Alimonti, J. B., Fausther-Bovendo, H., Wei, H., Aviles, J., Hiatt, E., Johnson, A., Morton, J., Swope, K., Bohorov, O., Bohorova, N., Goodman, C., Kim, D., Pauly, M. H., Velasco, J., Pettitt, J., ... Kobinger, G. P. (2014).

Reversion of advanced Ebola virus disease in nonhuman primates with ZMapp. *Nature*, 514(7520), 47–53.

Qu, D., Zheng, B., Yao, X., Guan, Y., Yuan, Z. H., Zhong, N. S., Lu, L. W., Xie, J. P., & Wen, Y. M. (2005). Intranasal immunization with inactivated SARS-CoV (SARS-associated coronavirus) induced local and serum antibodies in mice. *Vaccine*, 23(7), 924–931.

Racine, R., & Winslow, G. M. (2009). IgM in microbial infections : taken for granted ? *Immunology letters*, 125(2), 79–85.

Ramadan, N., & Shaib, H. (2019). Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) : A review. *Germs*, 9(1), 35–42.

Ren, L. L., Wang, Y. M., Wu, Z. Q., Xiang, Z. C., Guo, L., Xu, T., Jiang, Y. Z., Xiong, Y., Li, Y. J., Li, X. W., Li, H., Fan, G. H., Gu, X. Y., Xiao, Y., Gao, H., Xu, J. Y., Yang, F., Wang, X. M., Wu, C., Chen, L., ... Wang, J. W. (2020). Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human : a descriptive study. *Chinese medical journal*, 133(9), 1015–1024.

Reusken, C. B., Haagmans, B. L., Müller, M. A., Gutierrez, C., Godeke, G. J., Meyer, B., Muth, D., Raj, V. S., Smits-De Vries, L., Corman, V. M., Drexler, J. F., Smits, S. L., El Tahir, Y. E., De Sousa, R., van Beek, J., Nowotny, N., van Maanen, K., Hidalgo-Hermoso, E., Bosch, B. J., Rottier, P., ... Koopmans, M. P. (2013). Middle East respiratory syndrome coronavirus neutralising serum antibodies in dromedary camels: a comparative serological study. *The Lancet. Infectious diseases*, 13(10), 859–866.

Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, Alvarado-Arnez LE, Bonilla-Aldana DK, Franco-Paredes C, Henao-Martinez AF, Paniz-Mondolfi A, Lagos-Grisales GJ, Ramírez-Vallejo E, Suárez JA, Zambrano LI, Villamil-Gómez WE, Balbin-Ramon GJ, Rabaan AA, Harapan H, Dhama K, Nishiura H, Kataoka H, Ahmad T, Sah R, Réseau latino-américain de recherche sur les maladies à coronavirus 2019-COVID-19 (LANCOVID-19). Caractéristiques cliniques, de laboratoire et d'imagerie du COVID-19 : une revue systématique et une méta-analyse.

Rossi, G. P., Sanga, V., & Barton, M. (2020). Potential harmful effects of discontinuing ACE-inhibitors and ARBs in COVID-19 patients. *eLife*, 9, e57278.

Rothe C, Schunk M, Sothmann P, Bretzel G, Froeschl G, Wallrauch C, Zimmer T, Thiel V, Janke C, Guggemos W, Seilmaier M, Drosten C, Vollmar P, Zwirgmaier K, Zange S, Wölfel R, Hoelscher M. Transmission de l'infection 2019-nCoV par un contact asymptomatique en Allemagne.

Schoeman, D., & Fielding, B. C. (2019). Coronavirus envelope protein : current knowledge. *Virology journal*, 16(1), 69.

Scohy, A., Anantharajah, A., Bodéus, M., Kabamba-Mukadi, B., Verroken, A., & Rodriguez-Villalobos, H. (2020). Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 129, 104455.

Scott F. W. (1999). Evaluation of risks and benefits associated with vaccination against coronavirus infections in cats. *Advances in veterinary medicine*, 41, 347–358.

See, R. H., Zakhartchouk, A. N., Petric, M., Lawrence, D. J., Mok, C., Hogan, R. J., Rowe, T., Zitzow, L. A., Karunakaran, K. P., Hitt, M. M., Graham, F. L., Prevec, L., Mahony, J. B., Sharon, C., Auperin, T. C., Rini, J. M., Tingle, A. J., Scheifele, D. W., Skowronski, D. M., Patrick, D. M., ... Finlay, B. B. (2006). Comparative evaluation of two severe acute respiratory syndrome (SARS) vaccine candidates in mice challenged with SARS coronavirus. *The Journal of general virology*, 87(Pt 3), 641–650.

Sethuraman, N., Jeremiah, S. S., & Ryo, A. (2020). Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *Jama*.

Shahi, S., Vahed, S. Z., Fathi, N., & Sharifi, S. (2018). Polymerase chain reaction (PCR)-based methods : Promising molecular tools in dentistry. *International journal of biological macromolecules*, 117, 983-992.

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.

Sheikhzadeh, E., Eissa, S., Ismail, A., et Zourob, M. (2020). Techniques de diagnostic pour COVID-19 et nouveaux développements. *Talanta*, 220, 121392.

Shereen, M. A., Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N., & Siddique, R. (2020). COVID-19 infection : Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of advanced research*, 24, 91–98.

Singhal T. (2020). A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Indian journal of pediatrics*, 87(4), 281–286.

Snijder, E. J., Bredenbeek, P. J., Dobbe, J. C., Thiel, V., Ziebuhr, J., Poon, L. L., Guan, Y., Rozanov, M., Spaan, W. J., & Gorbalenya, A. E. (2003). Unique and conserved features of genome and proteome of SARS-coronavirus, an early split-off from the coronavirus group 2 lineage. *Journal of molecular biology*, 331(5), 991–1004.

Sohrab, S. S., & Azhar, E. I. (2020). Genetic diversity of MERS-CoV spike protein gene in Saudi Arabia. *Journal of infection and public health*, 13(5), 709–717.

Spruth, M., Kistner, O., Savidis-Dacho, H., Hitter, E., Crowe, B., Gerencer, M., Brühl, P., Grillberger, L., Reiter, M., Tauer, C., Mundt, W., & Barrett, P. N. (2006). A double-inactivated whole virus candidate SARS coronavirus vaccine stimulates neutralising and protective antibody responses. *Vaccine*, 24(5), 652–661.

Stadler, K., Roberts, A., Becker, S., Vogel, L., Eickmann, M., Kolesnikova, L., Klenk, H. D., Murphy, B., Rappuoli, R., Abrignani, S., & Subbarao, K. (2005). SARS vaccine protective in mice. *Emerging infectious diseases*, 11(8), 1312–1314.

- 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.
- Su, S., Wong, G., Shi, W., Liu, J., Lai, A., Zhou, J., Liu, W., Bi, Y., & Gao, G. F. (2016). Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends in microbiology*, 24(6), 490–502.
- Takasuka, N., Fujii, H., Takahashi, Y., Kasai, M., Morikawa, S., Itamura, S., Ishii, K., Sakaguchi, M., Ohnishi, K., Ohshima, M., Hashimoto, S., Odagiri, T., Tashiro, M., Yoshikura, H., Takemori, T., & Tsunetsugu-Yokota, Y. (2004). A subcutaneously injected UV-inactivated SARS coronavirus vaccine elicits systemic humoral immunity in mice. *International immunology*, 16(10), 1423–1430.
- Tang, L., Zhu, Q., Qin, E., Yu, M., Ding, Z., Shi, H., Cheng, X., Wang, C., Chang, G., Zhu, Q., Fang, F., Chang, H., Li, S., Zhang, X., Chen, X., Yu, J., Wang, J., & Chen, Z. (2004). Inactivated SARS-CoV vaccine prepared from whole virus induces a high level of neutralizing antibodies in BALB/c mice. *DNA and cell biology*, 23(6), 391–394.
- Tedeschi, S., Giannella, M., Bartoletti, M., Trapani, F., Tadolini, M., Borghi, C., & Viale, P. (2020). Clinical Impact of Renin-angiotensin System Inhibitors on In-hospital Mortality of Patients With Hypertension Hospitalized for Coronavirus Disease 2019. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 71(15), 899–901.
- Tsang, K. W., Ho, P. L., Ooi, G. C., Yee, W. K., Wang, T., Chan-Yeung, M., Lam, W. K., Seto, W. H., Yam, L. Y., Cheung, T. M., Wong, P. C., Lam, B., Ip, M. S., Chan, J., Yuen, K. Y., & Lai, K. N. (2003). A cluster of cases of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *The New England journal of medicine*, 348(20), 1977–1985.
- Tsui, P. T., Kwok, M. L., Yuen, H., & Lai, S. T. (2003). Severe acute respiratory syndrome : clinical outcome and prognostic correlates. *Emerging infectious diseases*, 9(9), 1064–1069.
- Tyrrell, D. A., & Bynoe, M. L. (1965). Cultivation Of A Novel Type Of Common-Cold Virus In Organ Cultures. *British medical journal*, 1(5448), 1467–1470.
- Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Velesler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281–292.e6.
- Wang, C., Li, W., Drabek, D., Okba, N., van Haperen, R., Osterhaus, A., van Kuppeveld, F., Haagmans, B. L., Grosveld, F., & Bosch, B. J. (2020). A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nature communications*, 11(1), 2251.
- Wang, L., Xu, J., Kong, Y., Liang, R., Li, W., Li, J., Lu, J., Dimitrov, D. S., Yu, F., Wu, Y., & Ying, T. (2019). Engineering a Novel Antibody-Peptide Bispecific Fusion Protein Against MERS-CoV. *Antibodies (Basel, Switzerland)*, 8(4), 53.

- Wang, M., Cao, R., Zhang, L., Yang, X., Liu, J., Xu, M., Shi, Z., Hu, Z., Zhong, W., & Xiao, G. (2020). Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell research*, 30(3), 269–271.
- Wang, M., Cao, R., Zhang, L., Yang, X., Liu, J., Xu, M., Shi, Z., Hu, Z., Zhong, W., & Xiao, G. (2020). Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell research*, 30(3), 269–271.
- Wang, Q., Zhang, Y., Wu, L., Niu, S., Song, C., Zhang, Z., Lu, G., Qiao, C., Hu, Y., Yuen, K. Y., Wang, Q., Zhou, H., Yan, J., & Qi, J. (2020). Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2. *Cell*, 181(4), 894–904.e9.
- Wang, X., Xu, W., Hu, G., Xia, S., Sun, Z., Liu, Z., Xie, Y., Zhang, R., Jiang, S., & Lu, L. (2020). RETRACTED ARTICLE : SARS-CoV-2 infects T lymphocytes through its spike protein-mediated membrane fusion. *Cellular & molecular immunology*, 1–3. Advance online publication.
- Wang, Y., Zhang, D., Du, G., Du, R., Zhao, J., Jin, Y., Fu, S., Gao, L., Cheng, Z., Lu, Q., Hu, Y., Luo, G., Wang, K., Lu, Y., Li, H., Wang, S., Ruan, S., Yang, C., Mei, C., Wang, Y., ... Wang, C. (2020). Remdesivir in adults with severe COVID-19 : a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet (London, England)*, 395(10236), 1569–1578.
- Wei, X., Li, X., & Cui, J. (2020). Evolutionary perspectives on novel coronaviruses identified in pneumonia cases in China. *National science review*, 7(2), 239–242.
- Weingartl, H., Czup, M., Czup, S., Neufeld, J., Marszal, P., Gren, J., Smith, G., Jones, S., Proulx, R., Deschambault, Y., Grudeski, E., Andonov, A., He, R., Li, Y., Copps, J., Grolla, A., Dick, D., Berry, J., Ganske, S., Manning, L., ... Cao, J. (2004). Immunization with modified vaccinia virus Ankara-based recombinant vaccine against severe acute respiratory syndrome is associated with enhanced hepatitis in ferrets. *Journal of virology*, 78(22), 12672–12676.
- Weiss, S. R., & Leibowitz, J. L. (2011). Coronavirus pathogenesis. *Advances in virus research*, 81, 85–164.
- Wise J. (2012). Patient with new strain of coronavirus is treated in intensive care at London hospital. *BMJ (Clinical research ed.)*, 345, e6455.
- Wölfel, R., Corman, V. M., Guggemos, W., Seilmaier, M., Zange, S., Müller, M. A., Niemeyer, D., Jones, T. C., Vollmar, P., Rothe, C., Hoelscher, M., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Ehmann, R., Zwirgmaier, K., Drosten, C., & Wendtner, C. (2020). Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, 581(7809), 465–469.
- Wong, C. K., Lam, C. W., Wu, A. K., Ip, W. K., Lee, N. L., Chan, I. H., Lit, L. C., Hui, D. S., Chan, M. H., Chung, S. S., & Sung, J. J. (2004). Plasma inflammatory cytokines and chemokines in severe acute respiratory syndrome. *Clinical and experimental immunology*, 136(1), 95–103.

Woo, P. C., Huang, Y., Lau, S. K., & Yuen, K. Y. (2010). Coronavirus genomics and bioinformatics analysis. *Viruses*, 2(8), 1804–1820.

Woo, P. C., Lau, S. K., Lam, C. S., Lau, C. C., Tsang, A. K., Lau, J. H., Bai, R., Teng, J. L., Tsang, C. C., Wang, M., Zheng, B. J., Chan, K. H., & Yuen, K. Y. (2012). Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *Journal of virology*, 86(7), 3995–4008.

World Health Organization (2003). Severe Acute Respiratory Syndrome. (SARS) : Multi-country outbreak.

World Health Organization. (2019). Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV).

Wrapp D, De Vlieger D, Corbett KS, Torres GM, Wang N, Van Breedam W, Structural Basis for Potent Neutralization of Betacoronaviruses by Single-Domain Camelid Antibodies. *Cell*. 2020.

Wu, A., Peng, Y., Huang, B., Ding, X., Wang, X., Niu, P., Meng, J., Zhu, Z., Zhang, Z., Wang, J., Sheng, J., Quan, L., Xia, Z., Tan, W., Cheng, G., & Jiang, T. (2020). Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. *Cell host & microbe*, 27(3), 325–328.

Wu, F., Zhao, S., Yu, B., Chen, Y. M., Wang, W., Song, Z. G., Hu, Y., Tao, Z. W., Tian, J. H., Pei, Y. Y., Yuan, M. L., Zhang, Y. L., Dai, F. H., Liu, Y., Wang, Q. M., Zheng, J. J., Xu, L., Holmes, E. C., & Zhang, Y. Z. (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*, 579(7798), 265–269.

Xia, S., Liu, M., Wang, C., Xu, W., Lan, Q., Feng, S., Qi, F., Bao, L., Du, L., Liu, S., Qin, C., Sun, F., Shi, Z., Zhu, Y., Jiang, S., & Lu, L. (2020). Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell research*, 30(4), 343–355.

Xia, S., Zhu, Y., Liu, M., Lan, Q., Xu, W., Wu, Y., Ying, T., Liu, S., Shi, Z., Jiang, S., & Lu, L. (2020). Fusion mechanism of 2019-nCoV and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein. *Cellular & molecular immunology*, 17(7), 765–767.

Xiang, J., Yan, M., Li, H., Liu, T., Lin, C., Huang, S., & Shen, C. (2020). Evaluation of Enzyme-Linked Immunoassay and Colloidal Gold-Immunochromatographic Assay Kit for Detection of Novel Coronavirus (SARS-Cov-2) Causing an Outbreak of Pneumonia (COVID-19). *MedRxiv*.

Xiao, K., Zhai, J., Feng, Y., Zhou, N., Zhang, X., Zou, J. J., ... & Zhang, Z. (2020). Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins. *Nature*, 1-4.

Yan CH, Faraji F, Prajapati DP, Boone CE, DeConde AS

Yang, W., Dang, X., Wang, Q., Xu, M., Zhao, Q., Zhou, Y., ... & Han, S. (2020). Rapid detection of SARS-CoV-2 using reverse transcription RT-LAMP method. *MedRxiv*.

Yang, Z. Y., Kong, W. P., Huang, Y., Roberts, A., Murphy, B. R., Subbarao, K., & Nabel, G. J. (2004). A DNA vaccine induces SARS coronavirus neutralization and protective immunity in mice. *Nature*, 428(6982), 561–564.

Yao, X., Ye, F., Zhang, M., Cui, C., Huang, B., Niu, P., Liu, X., Zhao, L., Dong, E., Song, C., Zhan, S., Lu, R., Li, H., Tan, W., & Liu, D. (2020). In Vitro Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 71(15), 732–739.

Yin, Y., & Wunderink, R. G. (2018). MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirology (Carlton, Vic.)*, 23(2), 130–137.

You, J., Dove, B. K., Enjuanes, L., DeDiego, M. L., Alvarez, E., Howell, G., Heinen, P., Zambon, M., & Hiscox, J. A. (2005). Subcellular localization of the severe acute respiratory syndrome coronavirus nucleocapsid protein. *The Journal of general virology*, 86(Pt 12), 3303–3310.

Younes, N. (2020). Challenges in laboratory diagnosis of the novel coronavirus SARS-CoV-2. *Viruses* 12. E582.

Yu, J., Chai, P., Ge, S., et Fan, X. (2020). Compréhensions récentes concernant la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) : du banc au chevet. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 476.

Yu, L., Wu, S., Hao, X., Dong, X., Mao, L., Pelechano, V., Chen, W. H., & Yin, X. (2020). Rapid Detection of COVID-19 Coronavirus Using a Reverse Transcriptional Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) Diagnostic Platform. *Clinical chemistry*, 66(7), 975–977.

Zaki, A. M., van Boheemen, S., Bestebroer, T. M., Osterhaus, A. D., & Fouchier, R. A. (2012). Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *The New England journal of medicine*, 367(19), 1814–1820.

Zhang, P., Zhu, L., Cai, J., Lei, F., Qin, J. J., Xie, J., Liu, Y. M., Zhao, Y. C., Huang, X., Lin, L., Xia, M., Chen, M. M., Cheng, X., Zhang, X., Guo, D., Peng, Y., Ji, Y. X., Chen, J., She, Z. G., Wang, Y., ... Li, H. (2020). Association of Inpatient Use of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin II Receptor Blockers With Mortality Among Patients With Hypertension Hospitalized With COVID-19. *Circulation research*, 126(12), 1671–1681.

Zhang, T., Wu, Q., & Zhang, Z. (2020). Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. *Current biology : CB*, 30(7), 1346–1351.e2.

- Zhang, Y., Odiwuor, N., Xiong, J., Sun, L., Nyaruaba, R. O., Wei, H., & Tanner, N. A. (2020). Rapid molecular detection of SARS-CoV-2 (COVID-19) virus RNA using colorimetric LAMP. *MedRxiv* 2 : 2020.02. 26.20028373.
- Zhang, Z., Wu, Q., & Zhang, T. (2020). Pangolin homology associated with 2019-nCoV. *BioRxiv*.
- Zhao, J., Yang, Y., Huang, H., Li, D., Gu, D., Lu, X., Zhang, Z., Liu, L., Liu, T., Liu, Y., He, Y., Sun, B., Wei, M., Yang, G., Wang, X., Zhang, L., Zhou, X., Xing, M., & Wang, P. G. (2020). Relation entre le groupe sanguin ABO et la susceptibilité COVID-19. *Maladies infectieuses cliniques : publication officielle de la Infectious Diseases Society of America*, cial1150. Publication en ligne à l'avance.
- Zhao, Y., Chen, F., Li, Q., Wang, L., & Fan, C. (2015). Isothermal amplification of nucleic acids. *Chemical reviews*, 115(22), 12491-12545.
- Zhao, Z., Cui, H., Song, W., Ru, X., Zhou, W., & Yu, X. (2020). A simple magnetic nanoparticles-based viral RNA extraction method for efficient detection of SARS-CoV-2. *BioRxiv*.
- Zhou, F., Yu, T., Du, R., Fan, G., Liu, Y., Liu, Z., Xiang, J., Wang, Y., Song, B., Gu, X., Guan, L., Wei, Y., Li, H., Wu, X., Xu, J., Tu, S., Zhang, Y., Chen, H., & Cao, B. (2020). Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China : a retrospective cohort study. *Lancet (London, England)*, 395(10229), 1054–1062.
- Zhou, J., Wang, W., Zhong, Q., Hou, W., Yang, Z., Xiao, S. Y., Zhu, R., Tang, Z., Wang, Y., Xian, Q., Tang, H., & Wen, L. (2005). Immunogenicity, safety, and protective efficacy of an inactivated SARS-associated coronavirus vaccine in rhesus monkeys. *Vaccine*, 23(24), 3202–3209.
- Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Si, H. R., Zhu, Y., Li, B., Huang, C. L., Chen, H. D., Chen, J., Luo, Y., Guo, H., Jiang, R. D., Liu, M. Q., Chen, Y., Shen, X. R., Wang, X., Zheng, X. S., ... Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273.
- Zhu, Z., Dimitrov, A. S., Bossart, K. N., Cramer, G., Bishop, K. A., Choudhry, V., Mungall, B. A., Feng, Y. R., Choudhary, A., Zhang, M. Y., Feng, Y., Wang, L. F., Xiao, X., Eaton, B. T., Broder, C. C., & Dimitrov, D. S. (2006). Potent neutralization of Hendra and Nipah viruses by human monoclonal antibodies. *Journal of virology*, 80(2), 891–899.
- Zumla, A., Chan, J. F., Azhar, E. I., Hui, D. S., & Yuen, K. Y. (2016). Coronaviruses - drug discovery and therapeutic options. *Nature reviews. Drug discovery*, 15(5), 327–347.