

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



Université des frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de biologie animale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
قسم بيولوجيا الحيوان

**Mémoire de master présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences biologiques**

**Spécialité : Génétique**

N° d'ordre :

N° de série :

**Thème**

---

**Etude de l'association de facteurs de risque et de polymorphisme**

**I/D de L'ECA et la COVID-19**

---

Présenté et soutenu par : MAIZOU Aymen

Le :14 /7 /2021

CHOUGUI Ramzi

**Jury d'évaluation :**

**Président : Dr BENHIZIA Hayet (MCA. Université des frères Mentouri Constantine 1)**

**Encadreur : Dr ZIADA-BOUCHAAR Hadia (MCB. Université des frères Mentouri Constantine 1)**

**Examineur : Dr GHARZOULI Razika (MCA. Université des frères Mentouri Constantine 1)**

**Année universitaire**

**2020-2021**



## *Remerciement*

Tout d'abord, nous remercions ***ALLAH*** le Tout puissant, qui nous a donné la force et la patience pour accomplir ce Modeste travail.

## **Remerciements**

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice, **Dr. Ziada-Bouchaar Hadia** qui nous a aidé tout au long de ce travail, par ses orientations, ses précieux conseils, sa compréhension et son infatigable dévouement. Recevez nos meilleurs sentiments et notre profonde considération*

*Nous remercions **Dr. Benhizia Hayet** ; pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider ce travail.*

*Nous remercions **Dr. Gharzouli Razika** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce travail.*

*Nous remercions **Pr. SATTA Dalila** Responsable de notre filière pour tous les efforts qu'elle a déployé pour réussir et mener à bien notre formation de génétique avec toute l'équipe de nos enseignants.*

*Je tiens à remercier toute **l'équipe pédagogique** responsable de la filière **génétique à l'université frères Mentouri***

*Nous tenons également à remercier tous nos amis (es) de la promotion « **Biologie Moléculaire et Génétique humaine 2020/2021** »*

*Et un grand remerciement à nos patients qui ont participé dans cette en permettant de réaliser notre travail pratique.*

*Enfin, nous adressons nos remerciements à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire. Nous n'avons été que les fédérateurs qui ont permis de fusionner leurs idées, savoirs et compétence.*

## *Dédicace*

A :

*La femme la plus chère du monde, ma très chère mère « OUAHIBA », la source de tendresse qui a tout donnée sans rien recevoir (Je t'adore du fond de mon cœur)*

*Le plus cher homme du monde, mon père » ABDERRAHMEN » la source de patience, de volonté, et de courage (Je t'adore du fond du mon cœur)*

*Mes chers frères : **Ramy, Habib**, et le petit **Rostom***

*Et bien sûr sans oublier mon binôme Aymen avec qui j'ai passé des beaux moments*

*A mes collègues avec qui j'ai passé avec les jours de préparation de mémoire : Ines, Rania, Nadjib et rania*

*. A tous mes chers amis chacun par son nom : foued, karim, Aymen, Salah, Sahraoui, Anis, Oussama*

*Tous mes collègues de la promotion génétique U.M.Constantine 2020-2021.*

*A tous ceux que j'aime ; Je dédie ce modeste travail.*

**RAMZI**

# Dédicace

A:

Celle qui a passé sa vie pour moi, à celle qui a éclairé mon cœur et a écrit mon nom sur les pupilles de ses yeux. *Ma très chère mère « DRIFA » (Je t'adore du fond de mon cœur)*

*Le plus cher homme du monde, mon père «ZOUAOUI» la source de patience et de volonté. (Que Dieu vous fasse miséricorde et nous rassemble avec vous au paradis, si Dieu le veut)*

*Ma deuxième maman : «HASSINA» Que Dieu vous protège pour moi*  
*A ma source d'inspiration, à mon frère «BILEL», tu resteras toujours dans mon cœur et dans ma mémoire. Que Dieu te bénisse et te fasse parmi les gens du Paradis*

*Mes chers frères : Oualid, Seif et Zinou*

*Mes chères sœurs : Nandjet, Razika, Mimi et Moufida*

*Mon binôme «RAMZI» Je te donne toutes les expressions de remerciements et de gratitude. Tu es le frère de celui que ma mère n'a pas mis au monde*

*A mes neveux et nièces : Louai , Ouail, Bahaa Eddine , Nasro , Dayaa et Abd El-Rahmane*

*Mes copains de route : Nadjib , Rania , Ines et Rania*

*Tous mes chers collègues : Salah, Anis, Sahraoui, Chouaib et Oussama*

*Mes proches : Skander , Fayssal , Ahmed , Abd El-Djalil et Abd El-Fateh*

**AYMEN**

# Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Listes d'abréviations

Introduction

## Chapitre I

### Généralités sur le coronavirus

1. Généralités .....	4
2. Propriétés virales .....	4
2.1 Structure .....	5
2.2 Génome .....	5
2.3 La réplication et pathogenèse .....	6
2.4 La période d'incubation .....	7
3. Epidémiologie de la COVID-19 due aux différents variants .....	8
3.1 Les différents variants de sars cov 2 .....	8
3.2 Epidémiologie des différents variants de la COVID-19 .....	11
3.3 Le taux de létalité .....	13
3.4 Mode de transmission .....	14
3.5 Réservoir du virus .....	14
4. les symptômes .....	15
4.1 Populations particulières à risque .....	16
5. Tests et Diagnostic .....	17
5.1 Test pour confirmation (RT-PCR) .....	17
5.2 Test antigénique .....	17
6. Vaccination .....	18
8. Différences entre la grippe et le covid-19 .....	18

## CHAPITRE II

### Coronavirus et prédispositions génétiques

1. Facteurs de risque du covid-19 .....	21
1.1 âge .....	21

1.2 Sexe.....	21
1.3 Groupes sanguins .....	22
1.4 HLA .....	22
2. Antécédents des maladies et atteinte par la Covid 19 .....	23
2.1 Insuffisance cardiaque et hypertension .....	23
2.2 Obésité sévère .....	23
2.3 Diabète et risque d'infection.....	24
2.4 Maladies rénales et hépatiques .....	25
2.5 Anomalies génétiques .....	26
2.6 Enzyme de conversion de l'angiotensine.....	26
3 Les mécanismes d'action du SARS-COV-2.....	27

### **CHAPITRE III**

#### **COVID-19 et ECA 1**

1. L'enzyme de conversion de l'angiotensine type 1 (ECA 1).....	30
1.1 Définition .....	30
1.2 Historique.....	30
1.3 Structure de la protéine et du gène de l'ECA .....	31
1.3.1 Structure de la protéine .....	31
1.3.2 Structure du gène de l'ECA .....	31
1.4 Métabolisme de l'enzyme de conversion de l'angiotensine .....	32
2. Polymorphisme du gène ACE et ses effets biologiques potentiels .....	34
3. Association polymorphisme I/D du gène ACE et maladies .....	35
3.1 Polymorphisme I/D du gène ACE et Diabète .....	35
3.2 Polymorphisme I/D du gène ACE et cancer colorectal (CCR) .....	35
3.3 Polymorphisme I/D du gène ACE et infarctus du myocarde (IM) .....	35
3.4 Polymorphisme I/D du gène ACE et hypertension (HTA).....	36
4. Covid-19 et ACE1 .....	36
4.1 Le système rénine-angiotensine-aldostérone (RAAS).....	36
4.2 Rôle de Le système rénine-angiotensine-aldostérone (RAAS) dans la pathogenèse du COVID-19 .....	36

### **Partie Pratique**

#### **Patients et méthodes**

1. Patients .....	42
-------------------	----

1.1 Populations d'étude.....	42
1.1.1 Population des témoins .....	42
1.1.2 Population des malades .....	42
2. Méthodologie.....	42
2.1 Questionnaire .....	42
2.2 Prélèvement sanguin .....	43
2.3 Étude moléculaire .....	43
2.3.1 Extraction d'ADN .....	43
2.3.2 Recherche du Polymorphisme I/D de l'ECA .....	43
2.3.3 Contrôle des produits de la PCR .....	45
3-Analyses statistiques .....	46

## **Résultats et Discussion**

1. Etude statistique.....	50
1.1 Facteurs de risque .....	50
1.1.1 Répartition des patients selon le sexe.....	50
1.1.2 Répartition des patients selon l'âge.....	51
1.1.3 Répartition de la population selon l'indice de masse corporelle (IMC) .....	52
1.1.4 Répartition des patients selon le tabagisme.....	53
1.1.5 Répartition des patients selon le type de profession .....	54
1.2 les paramètres épidémiologiques .....	55
1.2.1 Répartition de la population selon le mode de transmission de virus .....	55
1.2.2 Répartition de la population selon le lieu de transmission.....	56
1.3 Les caractéristiques cliniques .....	57
1.3.1 Répartition des patients selon les symptômes apparus.....	57
1.3.2 Répartition des patients selon l'état de conscience .....	58
1.3.3 Répartition des patients selon le type de test effectué.....	58
1.3.4 Répartition des patients selon le type de prise en charge .....	59
1.3.5 Répartition des patients selon les antécédents pathologiques .....	60
2. Etude génétique .....	61
2.1 Predisposition génétique due aux groupes sanguins.....	61
2.2 Étude de polymorphisme (I/D)de l' ECA.....	62
2.2.1 Répartition des fréquences génotypiques du gène ECA .....	62
2.2.2 Répartition des fréquences alléliques du gène ECA.....	62

## **Conclusion**

**Références Bibliographiques**

**Annexe**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

# Liste de tableaux

TABLEAU 1 : VARIANTS PREOCCUPANTES ET VARIANTES INTERESSANTES DU SRAS-COV-2 .....	9
TABLEAU 2 : RESUME DES CARACTERES DES VARIANTES PREOCCUPANTES DU SRAS-COV-2 .....	10
TABLEAU 3: MANIFESTATIONS CLINIQUES .....	15
TABLEAU 4 : AMORCES UTILISEES POUR L'AMPLIFICATION DU GENE ECA. ....	44
TABLEAU 5 : COMPOSANTS DU MILIEU REACTIONNEL DE LA PCR .....	44
TABLEAU 6 : CONDITIONS D'AMPLIFICATION DE LA PCR. ....	45
TABLEAU 7 : CONTINGENCE POUR LE CALCUL DE L'ODDS RATIO .....	47
TABLEAU 8 : REPARTITION DES PATIENTS SELON LES ANTECEDENTS PATHOLOGIQUES .....	60
TABLEAU 9 : FREQUENCES ALLELIQUES DE L'ECA CHEZ LES DEUX GROUPES .....	62
TABLEAU 10: REPARTITION DES FREQUENCES ALLELIQUES DU POLYMORPHISME I/D DE L'ECA..	62

# Liste de figures

FIGURE 1: REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UNE PARTICULE VIRALE ET DE L'ARN GENOMIQUE ET DES ARN SUBGENOMIQUES D'UN CORONAVIRUS PROTOTYPE .....	6
FIGURE 2 : CYCLE VIRALE DU SARS-COV-2 .....	7
FIGURE 3: PAYS, TERRITOIRES ET ZONES SIGNALANT DES VARIANTS ALPHA, BETA, GAMMA ET DELTA .....	13
FIGURE 4: LES SYMPTOMES DU COVID-19 .....	16
FIGURE 5 : STRUCTURE ET REPLICATION DU SARS-COV-2.....	28
FIGURE 6 : STRUCTURE DES GENES ET DES PROTEINES DE L'ACE .....	31
FIGURE 7 : LOCALISATION ET STRUCTURE DU GENE DE L'ECA .....	32
FIGURE 8 : LES DIFFERENTES VOIES DE SYNTHESE ET DE DEGRADATION DE L'ANGIOTENSINE ..	33
FIGURE 9 : VUE GENERALE DU SYSTEME RENINE-ANGIOTENSINE-ALDOSTERONE EN CAS D'INFECTION PAR LE COVID-19 .....	39
FIGURE 10 : PROFIL ELECTROPHORETIQUE DES FRAGMENTS AMPLIFIES PAR PCR DU GENE ECA SUR GEL D'AGAROSE 2%.....	46
FIGURE 11 : PROFIL ELECTROPHORETIQUE DES FRAGMENTS AMPLIFIES PAR PCR DU GENE ECA SUR GEL D'AGAROSE 2%.....	46
FIGURE 12 : REPARTITION DES PATIENTS SELON LE SEXE.....	50
FIGURE 13 : REPARTITION DES PATIENTS SELON LES TRANCHES D'AGES.....	51
FIGURE 14 : REPARTITION DE LA POPULATION SELON L'INDICE DE MASSE CORPORELLE (IMC) .....	52
FIGURE 15: REPARTITION DES PATIENTS SELON LE TABAGISME .....	53
FIGURE 16 : REPARTITION DES PATIENTS SELON LE TYPE DE PROFESSION .....	54
FIGURE 17 : REPARTITION DE LA POPULATION SELON LE MODE DE TRANSMISSION D'INFECTION .....	55
FIGURE 18 : REPARTITION DE LA POPULATION SELON LE LIEU DE TRANSMISSION .....	56
FIGURE 19: REPARTITION DES PATIENTS SELON LES SYMPTOMES APPARUS. ....	57
FIGURE 20: REPARTITION DES PATIENTS SELON L'ETAT DE CONSCIENCE .....	58
FIGURE 21 : REPARTITION DES PATIENTS SELON LE TYPE DE TEST.....	58
FIGURE 22: REPARTITION DES PATIENTS SELON L'HOSPITALISATION.....	59
FIGURE 23 : REPARTITION DES PATIENTS SELON LES ANTECEDENTS PATHOLOGIQUES .....	60
FIGURE 24: REPARTITION DES PATIENTS SELON GROUPE SANGUIN.....	61

# Listes d' abréviations

**ADN:** Acide désoxyribonucléique

**Ang-I:** Angiotensine I

**Ang-II:** Angiotensine II

**ARNm:** Acide Ribonucléique messenger

**AT1R:** Récepteur de type 1 de l'angiotensine

**CCR:** Cancer colorectal

**ECA:** Enzyme de conversion de l'angiotensine

**gACE:** germinale enzyme de conversion de l'angiotensine

**HLA :** système d'antigène leucocytaire humain

**HR1 :** heptad repeat 1

**HTA:** Hypertension

**I/D:** Insertion/Délétion

**IFN :** interferon

**IM:** Infarctus du myocarde

**IMC :** indice de masse corporelle

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

**OMS :** Organisation mondiale de la santé

**ORF :** open reading frame

**PCR:** Réaction de Polymérisation en Chaîne

**QTL:** Quantitative trait loci

**RAAS:** Système rénine-angiotensine-aldostérone

**RTC** : complexe réplication-transcription

**sACE**: somatique enzyme de conversion de angiotensine

**SDRA** : syndrome de détresse respiratoire aiguë

**SDRA**: Syndrome de detresse respiratoire aigue

**SNP**: Polymorphisme d'une seul nucléotide

**SRAS-CoV-2** : Sever Acute Respiratory Syndrom Coronavirus

**TMPRSS2** : transmembrane serine protease 2

**VI** : variantes d'intérêt

**VP** : variantes potentiellement préoccupantes

# **Introduction**

La **Covid-19** est une maladie infectieuse causée par le coronavirus qui est apparu dernièrement. Ce nouveau virus et cette maladie étaient inconnus avant l'apparition de la flambée à Wuhan (Chine) en décembre 2019. Après avoir été baptisé nCoV-2019 dans un premier temps, ce nouveau coronavirus a été appelé SARS-CoV-2 (SARS pour "Syndrome Aigu Respiratoire Sévère" et CoV pour "Coronavirus"). L'infection à Coronavirus (SARS Cov-2), a brûlé toutes les étapes en très peu de temps, passant de la phase d'épidémie dans une province de Chine (Hubei) à celle de pandémie en mars 2020, touchant quasiment tous les pays (Zhu *et al*, 2020).

L'Algérie n'a pas échappée de ce virus rapidement transmissible. La pandémie s'y propage à partir du 25 février 2020 lorsqu'un ressortissant italien est testé positif au SARSCoV-2 alors que le premier foyer détecté et qui a fait propager le virus se trouvait dans la wilaya de Blida le 1er mars 2020. Depuis, toute l'Algérie enregistre une évolution constamment progressive de la pandémie (OMS, 2020)

Depuis, cette maladie n'a pas cessé de nous surprendre par son profil multiforme, sa Propagation fulgurante, sa virulence et son apparente variable d'une population à l'autre et d'une personne à l'autre

Plusieurs chercheurs à travers le monde ont essayé à mettre en évidence certains facteurs de risque et prédispositions génétiques qui pourraient avoir un impact sur l'infection et/ou la sévérité de l'atteinte.

Le système angiotensine semble être impliqué dans la pathogenèse du COVID-19. Premièrement, ACE2 est le récepteur cellulaire du SRAS-CoV-2, et l'expression du gène ACE2 pourrait réguler la susceptibilité de l'individu à l'infection. De plus, l'équilibre entre l'activité ACE1 et ACE2 a été impliqué dans la pathogenèse des maladies respiratoires et pourrait jouer un rôle dans la gravité du COVID-19. Les polymorphismes I/D fonctionnels du gène ACE ont été associés au risque de maladies cardiovasculaires et pulmonaires, et pourraient donc également contribuer à l'issue de COVID-19 (Yuki, 2020).

A cet effet, dans le présent travail nous avons assigné comme objectifs de :

- Décrire le nouveau coronavirus sur tous les plans, structural, génétique et fonctionnel afin de mieux connaître ses caractéristiques et savoir l'étendue de sa gravité.
- Définir les différents variants du COVID-19 et leurs différentes caractéristiques ainsi que chaque propre épidémiologie.

- Identifier les facteurs de risque et les prédispositions génétiques qui puissent contribuer à augmenter soit le risque de l'infection soit la gravité de la pathologie.
- Déterminer le polymorphisme I/D de l'*ECAI* dans une population des témoins et une population des patients ayant contracté la Covid19.
- Comparer entre les fréquences génotypiques et alléliques entre les deux populations d'étude.
- Évaluer une éventuelle relation entre les allèles I ou D et l'infection par la covid19.

# **Chapitre I**

## **Généralités sur le coronavirus**

## 1. Généralités

La dernière menace pour la santé mondiale est l'épidémie en cours de la maladie respiratoire qui a récemment reçu le nom de maladie à coronavirus 2019 (Covid-19) (OMS 2020).

Une nouvelle maladie respiratoire infectieuse a été découverte pour la première fois, dans la province de Hubei, dans la ville chinoise de Wuhan, en décembre 2019 (Zhu *et al*, 2020).

C'était la première série d'infections dues à la transmission d'un animal à un homme a été suivie d'une propagation rapide de la maladie parmi les humains. La maladie a été reconnue comme étant causée par un nouveau coronavirus (SRAS-CoV-2) (Sever Acute Respiratory Syndrom Coronavirus) et appelée maladie à coronavirus-19 (COVID-19). L'infection s'est propagée en Chine et dans le monde entier, et elle a été déclarée pandémique par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) le 2 mars 2020 (Lai *et al*, 2020).

## 2. Propriétés virales

La COVID-19 est une maladie respiratoire virale causée par un nouveau coronavirus, appelé le coronavirus associé au SARS (SARS-CoV-2). COV a été identifié pour la première fois dans les années 1930 chez des volailles domestiques. La famille des Coronaviridae comprend quatre genres, alpha, bêta, delta et gamma coronavirus. Avant l'apparition de ce nouveau coronavirus, six d'entre eux étaient connus pour être responsables d'infections humaines : 02 alphacoronavirus (HCoV-NL63 ; HCoV-229E) et 04 bêtacoronavirus (HCoV-OC43. HCoV-HKUI. SARS-CoV-1. MERS-CoV) (Zhu, 2019).

L'analyse phylogénétique des génomes des coronavirus a révélé que le SARS-CoV-2 est un nouveau membre du genre betacoronavirus, qui comprend également le coronavirus associé au syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-1), celui lié au syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV).

A ce jour donc, Sept virus de la famille des Corona sont connus pour provoquer des maladies chez l'homme : quatre d'entre eux provoquent des symptômes de rhume et trois ont subi récemment des mutations qui leur permettent de provoquer des atteintes respiratoires plus graves, très épidémiques :

- Le SARS-CoV II a été identifié en 2002-2004, en Afrique Centrale, cause d'une épidémie de syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS).
- Le MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome) a été identifié en 2012 au Moyen-Orient où il provoquait des syndromes respiratoires. Depuis, 27 pays ont signalé des infections par MERS-Cov.
- Le SARS-CoV-2 est identifié fin 2019 comme la cause de la maladie COVID-19 qui aurait débuté à Wuhan en Chine et s'est propagé dans le monde entier provoquant une pandémie qui dure jusqu'à ce jour, faisant, au 7 juillet 2020, 11. 626. 759 nouveaux cas et 538. 190 décès, dans 196 pays (Tang *et al* .2020).

## 2.1 Structure

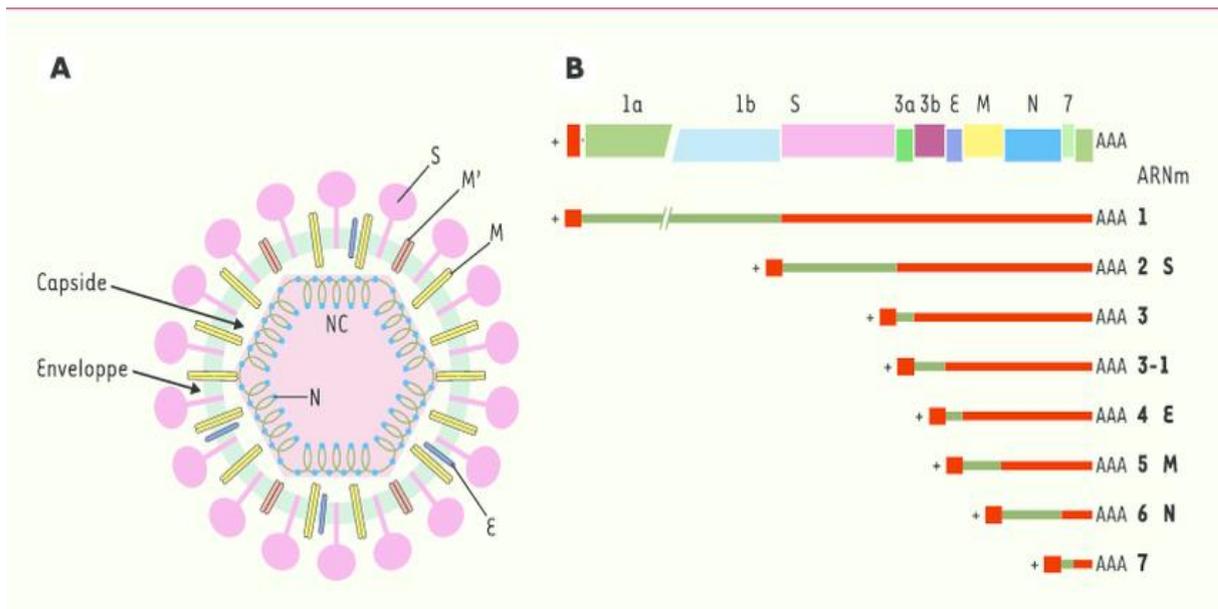
Le virus est sphérique et enveloppé, comprend de l'extérieur vers l'intérieur, la glycoprotéine Spike (S) (donne l'aspect en couronne au virus en microscopie électronique), l'enveloppe, la membrane et la nucléocapside elle-même, icosaédrique à symétrie cubique. Cette dernière contient une molécule de génome viral : de l'acide ribonucléique (ARN) monocaténaire, non segmenté et positif (29 881 paires de bases). (Jia *et al* ,2005)

## 2.2 Génome

En tant que nouveau bêtacoronavirus, le SRAS-CoV-2 partage 79% d'identité de séquence génomique avec le SRAS-CoV et 50% avec le MERS-CoV. Son organisation génomique est partagée avec d'autres bêtacoronavirus. Les six cadres de lecture ouverts fonctionnels (ORF) sont disposés dans l'ordre de 5' à 3' (Chan. 2020). La plupart des protéines codées par SARS-CoV-2 ont une longueur similaire aux protéines correspondantes dans SARS-CoV. Sur les quatre gènes structuraux, le SRAS-CoV-2 partage plus de 90% d'identité d'acides aminés avec le SRAS-CoV, à l'exception du gène S, qui diverge (Lu et coll .2020) (Zhou. et *al*, 2020).

Le gène de réplicase couvre les deux tiers du génome 5' et code pour une grande polyprotéine (pp1ab), qui est clivée protéolytiquement en 16 protéines non structurales impliquées dans la transcription et la réplication du virus.

La plupart de ces protéines non structurales du SRAS-CoV-2 ont une identité de séquence d'acides aminés supérieure à 85% avec le SRAS-CoV (Chan, 2020).



**Figure 1: Représentation schématique d'une particule virale et de l'ARN génomique et des ARN subgénomiques d'un coronavirus prototype (Tratner, 2020)**

- A. Représentation schématique d'une particule virale. L'enveloppe est formée des protéines S (spike), M et (M' membranaires) et E (enveloppe). La nucléocapside (NC), formée par l'ARN génomique associé à la protéine N, est contenue dans la capside, elle-même entourée de l'enveloppe.
- B. Structure schématique de l'ARN génomique et des ARN subgénomiques d'un coronavirus prototype. L'ARN génomique (brin+) code pour les protéines d'enveloppe et de nucléocapside ainsi que pour la réplicase, transcrite à partir de l'ORF (open reading frame) 1a puis de l'ORF 1b par changement de phase de lecture. La polyprotéine produite par l'ORF 1a/1b est ensuite protéolysée en diverses protéines qui forment le complexe répliatif. Les protéines structurales S, M, N et E sont traduites à partir de la première phase de lecture (envert) des ARN initiés en aval dans la séquence génomique du coronavirus. À l'extrémité 5' des ARN, une séquence 5' leader est présente, identique à l'extrémité 5' de l'ARN génomique (boîte rouge).

### 2.3 La réplication et pathogénèse

Le cycle de multiplication sars-cov-2 dans la cellule comprend l'attachement, la pénétration, la décapsidation, puis la synthèse des macromolécules (protéines et acides nucléaires) en trois étapes : précoce-immédiate, immédiate et tardive. Ces synthèses permettront d'assembler des nucléocapsides, puis d'envelopper et de libérer des virions infectieux en même temps que les décompositions cellulaires infectées. Ce cycle lytique existe dans les cellules respiratoires infectées par le virus.

Le virus s'attache spécifiquement au récepteur de la cellule sensible grâce à une interaction de haute affinité entre la protéine S virale et l'ACE2 (Angiotensin-converting enzyme), récepteur cellulaire de l'hôte. En effet, la protéine S est constituée de deux sous-unités fonctionnelles : la sous-unité S1 permet la liaison du virus au récepteur de la cellule hôte et la sous-unité S2 assure la fusion de l'enveloppe virale et la membrane cellulaire. Le clivage de la protéine S par les protéases de la cellule hôte active la fusion au niveau de deux sites en tandem, heptad repeat 1 (HR1) et HR2. Ainsi, l'ARN viral est libéré dans le cytoplasme. Le complexe réplication-transcription (RTC) assure la réplication du génome, la synthèse des protéines. Les protéines de structure s'auto-assemblent en capsomères puis en nucléocapside par intégration du génome répliqué. Formation de bourgeons, les vésicules contenant les virions fusionnent avec la membrane plasmique pour être libérées (Yu, 2020).

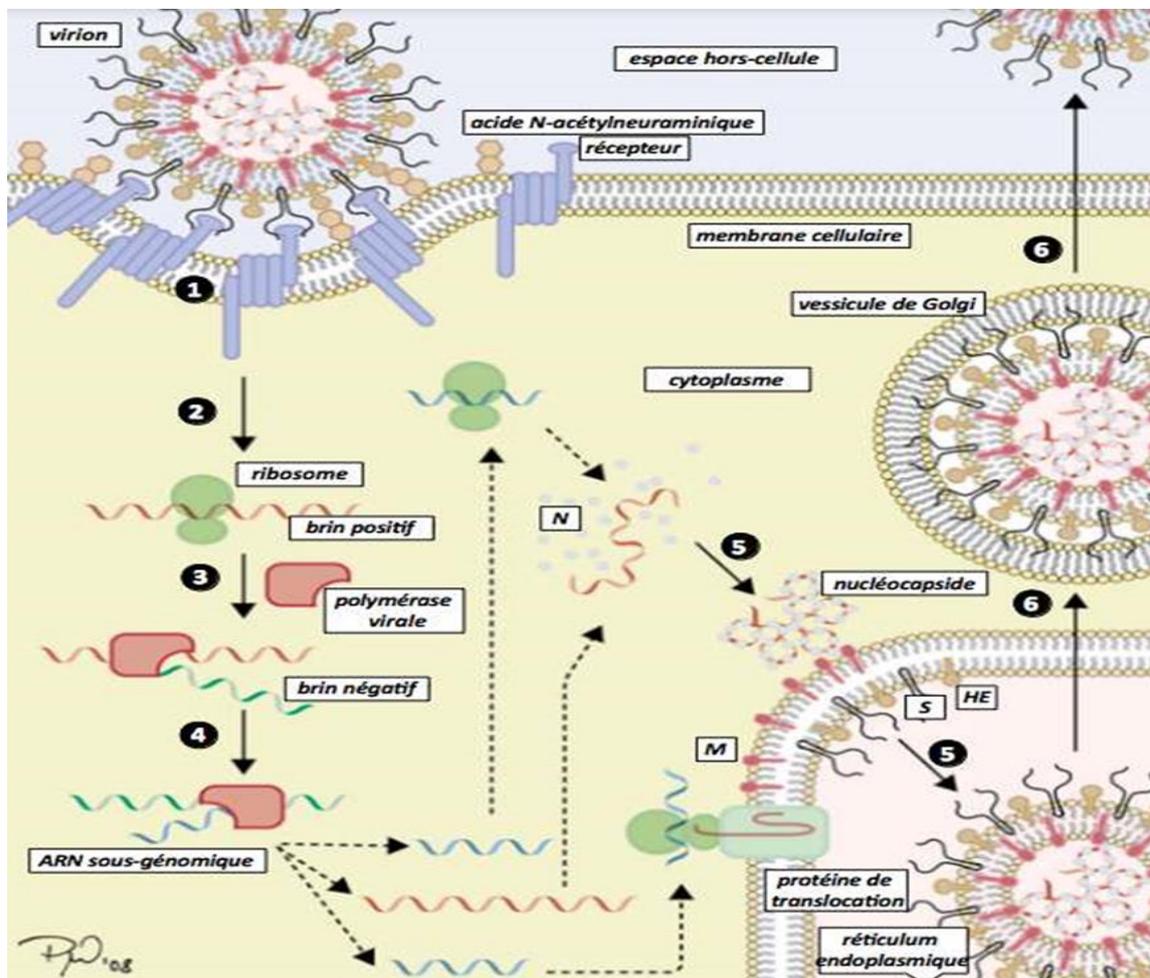


Figure 2 : Cycle virale du sars-cov-2 (Kumar, 2020)

## 2.4 La période d'incubation

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

## 3. Epidémiologie de la COVID-19 due aux différents variants

### 3.1 Les différents variants de sars cov 2

les virus évoluent avec le temps par des mutations, il faut donc s'attendre à l'émergence de nouveaux variants.

- Les variants peuvent présenter une ou plusieurs mutations. Les mutations peuvent rendre le virus plus facilement transmissible, augmenter la gravité de la maladie ou influencer sur l'efficacité des tests de diagnostic, des traitements ou des vaccins

- Si ces variants augmentent le risque pour la santé humaine, ils sont considérés comme des variants préoccupants. Quand il y a beaucoup d'infections dans une population, la probabilité que le virus mute augmente (OMS, 2021).

L'OMS, en collaboration avec les autorités nationales, les institutions et les chercheurs, évaluent systématiquement si les variantes du SRAS-CoV-2 modifient la transmission ou les caractéristiques de la maladie, ou ont un impact sur les vaccins, les thérapies, les diagnostics ou les mesures de santé publique et sociales (MSPS) appliquées par les autorités nationales pour contrôler la maladie diffusée. Des systèmes ont été mis en place pour détecter les signaux des variantes potentiellement préoccupantes (VP) ou variantes d'intérêt (VI) et les évaluer en fonction du risque posé pour la santé publique mondiale. Au fur et à mesure que ces risques évoluent, l'OMS met à jour la liste des VPs et VIs mondiaux (tableau 2) pour soutenir la définition des priorités en matière de surveillance et de recherche, et finalement orienter les stratégies de riposte (OMS, 2021).

Tableau 1 : Variants préoccupantes et variantes intéressantes du SRAS-CoV-2 (OMS, 2021)

<b>Variants</b>	<b>Type</b>	<b>Nomenclature des clades et lignages</b>	<b>Premiers échantillons documentés</b>	<b>Date de désignation</b>
<b>Alpha</b>	Variants préoccupantes	GR/501Y.V1	Royaume-Uni, Sep-2020	18-Dec-2020
<b>Bêta</b>	Variants préoccupantes	GH/501Y.V2	Afrique du Sud, Mai-2020	18-Dec-2020
<b>Gamma</b>	Variants préoccupantes	GR/501Y.V3	Brésil, Nov-2020	11-Jan-2021
<b>Delta</b>	Variants préoccupantes	G/478K.V1	Inde, Oct-2020	11-Mai-2021
<b>Epsilon</b>	Variants d'intérêt	GH/452R.V1	États-Unis d'Amérique, Mar 2020	5-Mar-2021
<b>Zêta</b>	Variants d'intérêt	GR/484K.V2	Brésil, Avr-2020	17-Mar-2021
<b>Êta</b>	Variants d'intérêt	G/484K.V3	Plusieurs pays, Dec-2020	17-Mar-2021
<b>Hêta</b>	Variants d'intérêt	GR/1092K.V1	Philippines, Jan-2021	24-Mar-2021
<b>Iota</b>		GH/253G.V1		24-Mar-2021

	Variante d'intérêt		États-Unis d'Amérique, Nov-2020	
<b>Kappa</b>	Variante d'intérêt	G/452R.V3	Inde, Oct-2020	4-Avr-2021
<b>Lambda</b>	Variante d'intérêt	GR/452Q.V1	Pérou, Aout-2020	14-Juin-2021

Grâce à des études récentes sur les souches, des variantes inquiétantes se sont vu attribuer plusieurs caractéristiques (tableau), ce qui permet de savoir beaucoup sur le mode de propagation et d'essayer de trouver des moyens de le contrôler (OMS, 2021).

**Tableau 2 : Résumé des caractères des variantes préoccupantes du SRAS-CoV-2 (OMS, 2021)**

	<b>Alpha</b>	<b>Bêta</b>	<b>Gamma</b>	<b>Delta</b>
<b>Transmissibilité</b>	Augmentation de la transmissibilité et du taux d'attaque secondaire (Buchan SA et al, 2021).	Transmissibilité accrue (Tegally H et al, 2021).	Transmissibilité accrue (Curran et al, 2021).	Augmentation de la transmissibilité et du taux d'attaque secondaire (Cherian al, 2021).
<b>Gravité de la maladie</b>	Risque accru d'hospitalisation, risque accru possible de gravité et de mortalité (OMS, 2021)	Non confirmé, risque accru possible de mortalité à l'hôpital (Pearson, 2021).	Non confirmé, risque accru d'hospitalisation possible (Funk et al, 2021)	Non confirmé, risque accru d'hospitalisation possible (PHE, 2021).

<b>Risque de réinfection</b>	Activité neutralisante conservée, le risque de réinfection reste similaire (Gallais F et al, 2021).	Réduction de l'activité neutralisante signalée ; La réponse des lymphocytes T provoquée par le virus D614G reste efficace (Wibmer CK et al, 2021)	Réduction modérée de l'activité neutralisante signalée (Naveca F et al, 2021)	Réduction de l'activité neutralisante signalée (Planas D et al, 2021)
<b>Impacts sur Diagnostique</b>	Impact limité – Échec de la cible du gène S (SGTF) ; aucun impact sur le résultat global de la RT-PCR à cibles multiples, Aucun impact sur les Ag observé (OMS, 2021)	Aucun impact sur la RT-PCR ou les Ag RDT observés (Li R et al, 2021)	Aucun signalé à ce jour	Aucun signalé à ce jour

### 3.2 Epidémiologie des différentes variantes de la COVID-19

Les variants du COVID-19 se sont propagés à une vitesse inhabituelle, occupant presque toutes les régions du monde de manière terrible (Figure 3).

Comme il a été indiqué dans les statistiques du mois de juin 2021 qu'il est en

La Région africaine a notifié plus de 132 000 nouveaux cas et plus de 1 900 nouveaux cas décès, une augmentation de 39 % et 38 % respectivement par rapport à les semaines précédentes, la plus forte augmentation en pourcentage signalée dans le monde (OMS,2021).

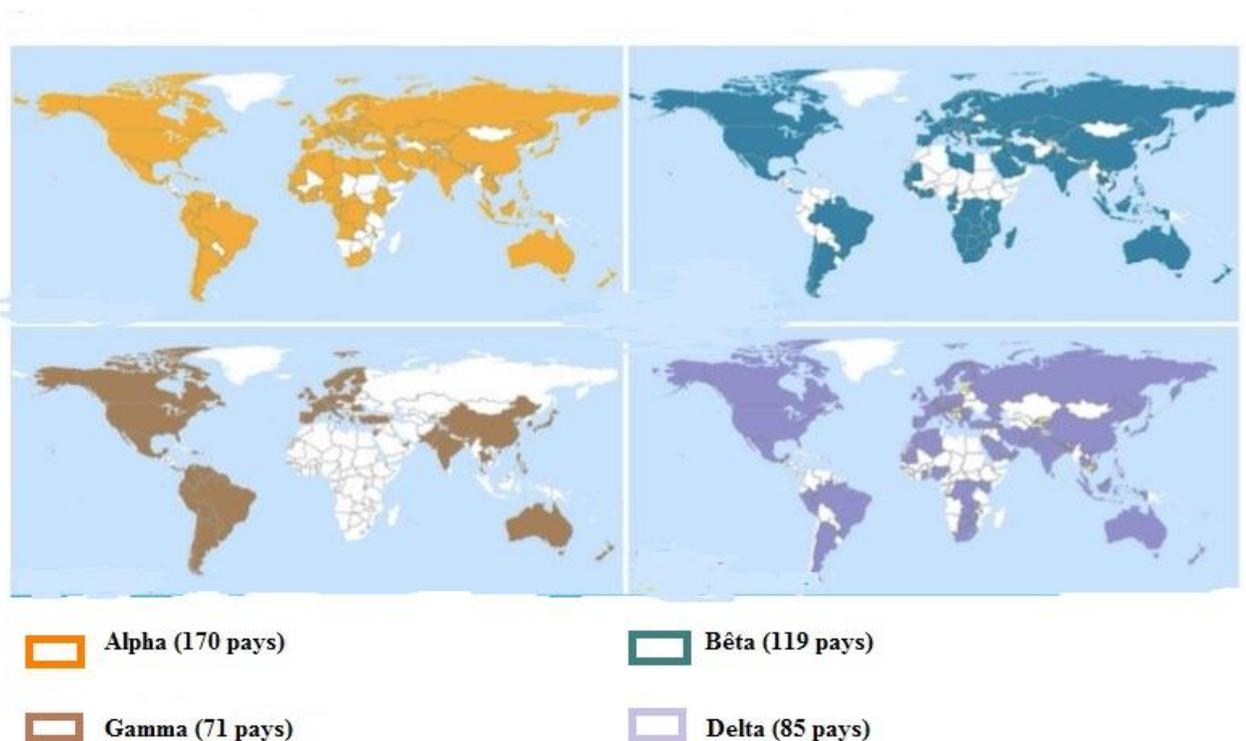
La Région des Amériques a signalé plus de 1,1 million de nouveaux cas et plus 30 000 nouveaux décès, un nombre similaire de cas et une baisse de 4% des décès par rapport à les semaines précédentes (OMS,2021).

Après deux mois de baisse de l'incidence hebdomadaire des cas, l'Est La Région méditerranéenne a notifié plus de 195 000 nouveaux cas et plus de 3 400 nouveaux cas décès, nombres similaires à ceux de les semaines précédentes (OMS,2021).

La Région européenne a notifié plus de 324 000 nouveaux cas et plus de 6 400 nouveaux cas décès, une baisse de 6 % et de 12 % respectivement par rapport à les semaines précédentes (OMS,2021).

La Région de l'Asie du Sud-Est a notifié plus de 600 000 nouveaux cas et plus de 19 000 nouveaux décès, respectivement une baisse de 21 % et de 26 % par rapport à les semaines précédentes (OMS,2021).

La Région du Pacifique occidental a signalé un peu moins de 124 000 nouveaux cas, un nombre à la semaine précédente, et un peu plus de 2000 nouveaux décès, une augmentation de 9% par rapport à la semaine précédente. Alors que la Région a signalé une baisse tendance au cours des deux dernières semaines, certains pays, dont Fidji, la Mongolie et Singapour a enregistré une augmentation du nombre de cas cette semaine par rapport à les semaines précédentes (OMS,2021).



**Figure 3: Pays, territoires et zones signalant des variants Alpha, Bêta, Gamma et Delta (OMS, 2021)**

### 3.3 Le taux de létalité

Le taux de létalité d'une infection représente la probabilité de mourir pour une personne infectée, qu'elle aille ou non à l'hôpital. Le taux de létalité des cas (sous-entendu cliniques) concerne quant à lui la probabilité de mourir pour une personne infectée qui est suffisamment malade pour se présenter dans un hôpital ou une clinique. Ce taux est donc plus élevé que le taux de létalité de l'infection, car les personnes qui se présentent à l'hôpital sont généralement plus gravement malades. Il est plus adapté de l'utiliser dans le cadre d'un dépistage de masse, tandis qu'il sera plus important en cas de diagnostic ciblé chez les malades présentant des symptômes et des facteurs de risque.

Le 30 mars 2020, une modélisation réalisée à partir de 44 672 cas confirmés à travers le monde dont 1 023 décès estimait un taux de létalité ajusté de 1,4 %, atteignant 6,4 % dans la population âgée de plus de soixante ans (Verity et al, 2020)

### 3.4 Mode de transmission

Selon les informations disponibles jusqu'à présent, la covid-19 se propage de façon prédominante :

- Par les gouttelettes respiratoires générées lorsqu'une personne infectée parle, tousse ou éternue
- Par contact étroit et prolongé entre les personnes (moins de 2 mètres, plus de 15 minutes)
- Par des aérosols créés par la toux, les éternuements et la respiration, entre autres
- Par contact indirect ou surfaces et objets contaminés (ASPAM, 2020)

Le risque de transmission est augmenté dans des espaces restreints, ventilés de façon inadéquate, à forte densité d'occupants et lorsque la durée d'exposition est prolongée

Le virus peut se propager lorsque de petites particules liquides sont expulsées par la bouche ou par le nez quand une personne infectée tousse, éternue, parle ou respire profondément. Ces particules liquides sont de différentes tailles, allant de grosses « gouttelettes respiratoires » à des « aérosols » plus petits.

La transmission par aérosols peut se produire dans des contextes spécifiques, en particulier dans des espaces intérieurs, bondés et insuffisamment ventilés.

La COVID-19 soit contractée lorsque le virus entre dans la bouche, le nez ou les yeux (WHO, 2020).

### 3.5 Réservoir du virus

Les chauves-souris sont des hôtes naturels importants des alphacoronavirus et des bêtacoronavirus. Le plus proche parent du SRAS-CoV-2 connu à ce jour est un coronavirus de chauve-souris détecté chez *Rhinolophus affinis* de la province du Yunnan, en Chine, nommé " RaTG13 ", dont la séquence du génome pleine longueur est identique à 96,2% à celle du SRAS-CoV-2. Ce virus de chauve-souris partage plus de 90% d'identité de séquence avec le SRAS-CoV-2 dans tous les ORF du génome, y compris le S et l'ORF8 hautement variables (Zhou et *al*, 2020).

Au-delà des chauves-souris, les pangolins sont un autre hôte faunique probablement lié au SRAS-CoV-2. Virus multiples liés au SRAS-CoV-2 ont été identifiés dans les tissus de Malayen pangolins passés en contrebande en provenance d'Asie du Sud - Est dans le sud de la Chine de 2017 à 2019 (Liu et *al*, 2020) (Lam, 2020).

Les données disponibles sont insuffisantes pour interpréter les pangolins comme l'hôte intermédiaire du SRAS-CoV-2. Jusqu'à présent (Mars 2021), aucune preuve n'a montré que les pangolins étaient directement impliqués dans l'émergence du SRAS-CoV-2 (Shi J et coll, 2020).

#### 4. les symptômes

Les symptômes du COVID-19 vont de la fièvre à la toux sèche, fatigue, congestion, maux de gorge et diarrhée pour pneumonie. Bien que des études récentes fournissent des preuves d'un grand nombre de patients qui ne présentent pas de symptômes qui sont le principal réservoir de développement de l'infection. Les affections graves peuvent rapidement se transformer en syndrome de détresse respiratoire, qui peut être mortel (Lai et al, 2020). La période d'incubation est en moyenne de 4 à 5 jours avec une apparition des symptômes qui débute au 5<sup>e</sup> jour en moyenne après la contamination.

**Tableau 3: manifestations cliniques (OMS, 2021)**

Type de symptôme	Exemple
Les symptômes les plus courants	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Fièvre</li> <li>. Toux sèche</li> <li>. Fatigue</li> </ul>
Symptômes moins courants peuvent toucher certains patients	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Perte du goût et de l'odorat</li> <li>. Congestion nasale</li> <li>. Conjonctivite (yeux rouges)</li> <li>. Mal de gorge</li> <li>. Maux de tête</li> <li>. Douleurs musculaires ou articulaires</li> <li>. Différents types d'éruption cutanée</li> <li>. Nausées ou vomissements</li> <li>. Diarrhée</li> <li>. Frissons ou vertiges</li> </ul>
Les symptômes grave de COVID-19	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Essoufflement</li> <li>. Perte d'appétit</li> <li>. Douleurs ou sensation d'oppression persistantes dans la poitrine</li> <li>. Température élevée (supérieure à 38° C)</li> </ul>

D'autres symptômes moins courants	<ul style="list-style-type: none"> <li>. Irritabilité</li> <li>. État confusionnel</li> <li>. Altération de la conscience (parfois associée à des crises)</li> <li>. Troubles anxieux</li> <li>. Dépression</li> <li>. Troubles du sommeil</li> </ul>
-----------------------------------	---

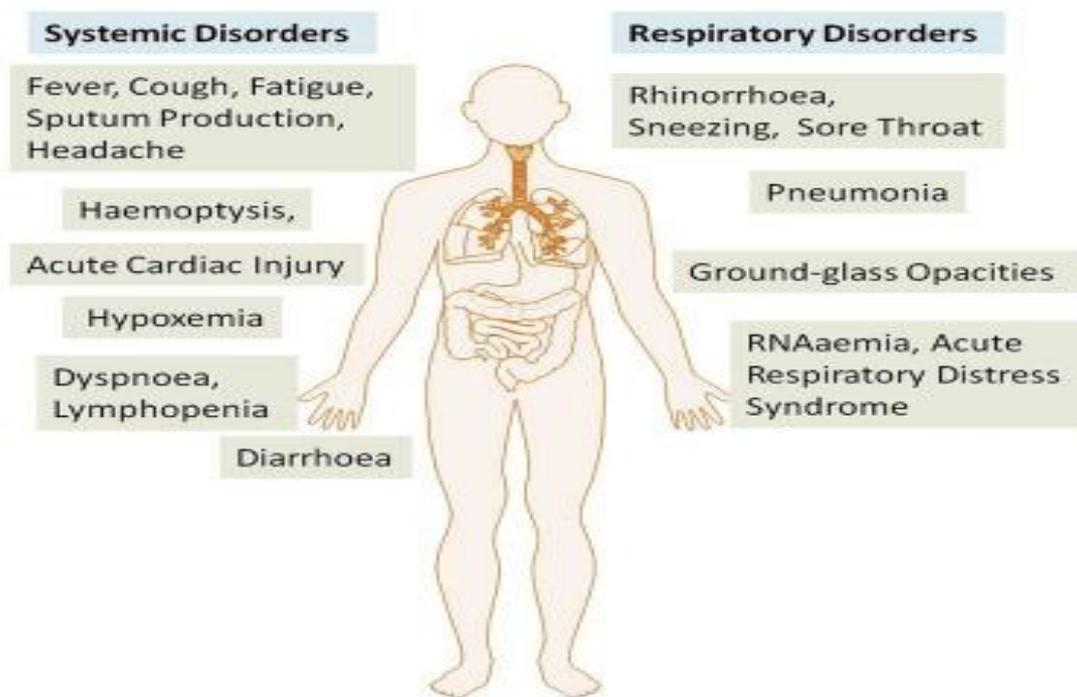


Figure 4: Les symptômes du covid-19 (Kumar, 2020)

#### 4.1 Populations particulières à risque

Toute la population est à risque de maladie covid-19. Toutefois, certains sujets sont plus susceptibles d'avoir de graves formes d'admissions réanimation ou de décès :

- Les personnes de **plus de 65 ans**
- Les personnes atteintes d'une maladie chronique ou fragilisant leur système immunitaire (notamment antécédents cardiovasculaires, diabète et obésité, pathologies chroniques respiratoires, cancers, insuffisance rénale, cirrhose, splénectomie, drépanocytose...)

- Les femmes enceintes au 3<sup>ème</sup> trimestre de grossesse. (OMS, 2020)

## 5. Tests et Diagnostic

Le diagnostic de l'infection COVID-19 peut-être réalisé de deux manières :

- Soit en identifiant directement un élément spécifique de la structure virale, ou en isolant le virus sur la culture cellulaire
- Soit indirectement en détectant des anticorps spécifiques produits par une personne infectée. (OMS, 2020)

### 5.1 Test pour confirmation (RT-PCR)

Dans la plupart des cas, un test moléculaire est utilisé pour détecter le SRAS-CoV-2 et confirmer l'infection. La réaction polymère en chaîne (PCR) est l'essai moléculaire le plus couramment utilisé. Des échantillons du nez et/ou de la gorge sont prélevés avec un écouvillon. Les tests moléculaires détectent le virus dans l'échantillon en amplifiant le matériel génétique viral à des niveaux détectables. Pour cette raison, un test moléculaire est utilisé pour confirmer une infection active, généralement dans les quelques jours suivant l'exposition et autour du temps les symptômes peuvent apparaître (OMS, 2020).

### 5.2 Test antigénique

- Les tests antigènes rapides (parfois appelés tests diagnostiques rapides - TDR) détectent les protéines virales (appelées antigènes). Est un test direct manuel, sur un boîtier en plastique, ressemblant à un test de grossesse, ils sont vendus en pharmacie. Un prélèvement sanguin est nécessaire et doit être appliqué dans le puit réservé à cet effet, la réaction obtenue après quelques minutes (de 10 à 30 minutes) est affichée sous forme de barres qui apparaissent sur le boîtier et indiquent la présence ou l'absence des IgM et des IgG, un TDR négatif n'indique pas l'absence de contamination (OMS, 2020)
- Tests antigéniques : ce test détecte le virus directement dans un prélèvement nasopharyngé, en vérifiant la présence de protéines spécifiques au SARS-CoV-2. Ces tests sont moins chers que la PCR et offriront des résultats plus rapidement, ils peuvent être "assez douloureux", mais "ils sont plus efficaces car ils sont réalisés dans les zones où le virus se multiplie le plus. Bien qu'ils soient généralement moins précis. Ces tests fonctionnent mieux (OMS, 2020)

Les tests salivaires constituent une alternative prometteuse aux prélèvements nasopharyngés pour le diagnostic du Covid-19. Toutefois, de plus amples recherches sont nécessaires avant

d'introduire de manière plus systématique les échantillons de salive dans les diagnostics du SARS-CoV-2 (banet, 2020).

\*Les tests sérologiques peuvent aider à diagnostiquer des infections aiguës tardive (RT-PCR négative ou non faite), ils sont importants pour diagnostiquer des infections guéries non diagnostiquées au paravent

\*Le test diagnostique moléculaire, la RT-PCR, reste le « Gold standard » pour le diagnostic biologique, il permet la détection précoce de la COVID-19.

\*la sérologie et les tests moléculaires sont tous deux importants dans les efforts actuels pour diagnostiquer, traiter et limiter la propagation du SARS-CoV-2 (Amhis, 2020).

## 6. Vaccination

Actuellement il existe beaucoup de vaccins qui sont utilisés. Le premier programme de vaccination de masse a débuté début décembre 2020, et le nombre de doses de vaccination administrées quotidiennement est mis à jour. Au moins 13 vaccins différents ont été administrés (sur 4 plateformes).

Comme les vaccins COVID n'ont été mis au point que ces derniers mois, il est trop tôt pour dire combien de temps dureront les vaccins COVID-19. Des recherches sont en cours pour répondre à cette question. Cependant, il est encourageant que les données disponibles suggèrent que la plupart des personnes qui se rétablissent de COVID-19 développent une réponse immunitaire qui fournit au moins une certaine période de protection contre la réinfection. (Annexe 3) (Annexe 5)

## 7. Différences entre la grippe et le covid-19

**Durée d'incubation.** La grippe a une période d'incubation plus courte que le Covid-19 : entre 1 et 3 jours pour la grippe contre 3 à 5 jours (parfois jusqu'à 14 jours) pour le Covid-19.

**Rapidité de transmission.** Le coronavirus a un intervalle sériel (rapidité de transmission du virus entre 2 cas qui se suivent sur la chaîne de transmission) de 5 à 6 jours tandis que la grippe a un intervalle sériel de 3 jours. La grippe se propage donc plus rapidement que le Covid-19.

**Taux de reproduction.** Le taux de reproduction du Covid-19 (nombre d'infections secondaires provoquées par un individu infecté) est 2 fois à 2.5 fois plus élevé que celui de la grippe.

**Personnes touchées.** Les enfants sont des vecteurs importants de transmission du virus de la grippe dans leur entourage. Pour le Covid-19, les études indiquent que les enfants sont moins touchés que les adultes et que les taux d'attaques cliniques chez les 0-19 ans sont bas.

**Complications.** Le Covid-19 a des taux de formes sévères et de complications plus élevés que la grippe. Parmi les complications d'une infection au coronavirus : syndrome de détresse respiratoire aiguë, insuffisance rénale aiguë voire défaillance multi-viscérale...

**Mortalité.** A date, 30 950 personnes sont décédées du Covid-19 en France. La grippe, elle, tue chaque année "entre 10 000 à 15 000 décès, principalement chez les sujets fragiles" en France, selon l'Institut Pasteur.

**Vaccin.** Plusieurs dizaines de vaccins contre le Covid-19 sont en cours de mise au point, mais il n'y a actuellement aucun vaccin contre cette maladie. En revanche, chaque année, un vaccin contre la grippe est disponible.

**Traitements.** Plusieurs traitements contre le Covid-19 font actuellement l'objet d'essais cliniques, mais aucun traitement homologué n'est disponible. En revanche, il existe des antiviraux contre le virus de la grippe (Pierre, 2020)

# **CHAPITRE**

## **II**

# **Coronavirus et prédispositions génétiques**

# Coronavirus et prédispositions génétiques

La maladie de la covid 19 peut se manifester sous plusieurs formes selon des symptômes qui apparaissent après incubation. Afin d'expliquer certains cas sévères de la maladie il a été observé que 95 % des malades présentant des formes graves ont des facteurs de risques bien identifiés : ils ont plus de 50 ans ou des comorbidités, parfois les deux. Des scientifiques s'interrogent sur l'existence de facteurs génétiques favorisant les cas graves de Covid-19. Une hypothèse qui pourrait expliquer pourquoi des personnes jeunes ou en bonne santé sont parfois durement touchées. Et si l'un des mystères du Covid-19 se cachait dans les gènes humains (ferney, 2020).

## 1. Facteurs de risque du covid-19

### 1.1 âge

Les scientifiques ont utilisé un modèle pour comprendre si la susceptibilité à l'infection pouvait à elle seule expliquer la distribution de la mortalité observée dans trois pays, le Japon, l'Italie et l'Espagne (WHO, 2020). Malgré les différences entre pays, la distribution de la mortalité selon les tranches d'âge est comparable entre ces trois pays. Les chercheurs en concluent que la susceptibilité à l'infection ne varie pas avec l'âge. Cela ne permet pas d'exclure totalement que les personnes âgées soient plus sensibles à l'infection, mais cela ne semble pas influencer de façon significative le nombre de patients touchés par la Covid-19 (Kern, 2020).

Si la susceptibilité ne varie pas avec l'âge, la sévérité de la maladie, l'apparition des symptômes et la mortalité sont, quant à elles, bien reliées à l'âge des malades. L'âge constitue alors l'un des facteurs de comorbidité les plus importants (Kern, 2020).

### 1.2 Sexe

Les données de recherche « Global Health 50/50, 2020 » confirment que les hommes développent plus souvent des formes sévères de COVID-19 et décèdent plus fréquemment de l'infection. Ainsi, la probabilité de décéder de la COVID-19 pour les hommes infectés est plus élevée en Suisse, aux Pays-Bas et en Thaïlande par rapport aux femmes infectées (Global Health 50/50, 2020). A l'échelle européenne, la proportion d'hommes hospitalisés

en unité de soins intensifs est plus élevée, s'élevant à 70–80% sur l'ensemble des cas des deux sexes (Steck,2021)

Les raisons exactes de cette différence entre les sexes sont encore obscures. Sur la base des données de l'épidémie de SARS dans les années 2002/2003, il est suspecté que le récepteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA-2), qui est présent à la fois dans le sang et dans la membrane cellulaire, joue un rôle central dans les différences entre les sexes. La protéine permet la pénétration cellulaire du SARS-CoV-2 (Gebhard, 2021).

Une étude récemment publiée a montré que les hommes atteints d'insuffisance cardiaque chronique présentent des concentrations sanguines d'ECA-2 plus élevées que les femmes atteintes d'insuffisance cardiaque. De même, la concentration sanguine d'ECA-2 augmente plus fortement chez les garçons durant la puberté que chez les filles (Swärd, 2020)

Des études expérimentales chez l'animal laissent en outre à penser que les œstrogènes abaissent à la fois l'expression de l'ECA-2 dans la membrane cellulaire et inhibent l'interaction du SARS-CoV-2 avec l'ECA-2 dans les poumons (Catherine 2021).

### **1.3 Groupes sanguins**

Une autre piste génétique pourrait être à l'origine de la sensibilité au COVID-19. Il s'agit du groupe sanguin ABO, un caractère génétiquement déterminé dont l'expression est très polymorphe. Une étude évaluant l'association entre l'infection au SARS-CoV et le groupe sanguin avait indiqué que les individus portant le groupe sanguin O présentaient un risque plus réduit (OR, 0.18; IC à 95%, 0.04-0.81). D'autres études avaient constaté que les anticorps anti-A pourraient bloquer spécifiquement l'interaction entre la protéine S du SARS-CoV et le récepteur ACE2. Même conclusion dans une étude cas-témoins qui avait constaté que les individus de groupe sanguin A avaient plus de risque par rapport aux individus de groupe sanguin non-A, tandis que les individus de groupe sanguin O étaient moins susceptibles d'être infectés (Zhao, 2020).

### **1.4 HLA**

Une attention particulière est accordée au système d'antigène leucocytaire humain (HLA). Dans plusieurs pathologies virales, les mutations dans les gènes HLA influencent la réponse du système immunitaire et influencent la sévérité de la maladie. D'autant plus que ces gènes sont caractérisés par leur grande diversité allélique. Une étude se basant une analyse *in silico* qui a évalué l'affinité de liaison entre les peptides immunogènes dérivés

du virus SARS-CoV-2 et les molécules HLA de classe I codées par 145 génotypes avait montré que l'allèle HLA-B\*46:01 présente moins de peptides de liaisons pour le virus. À l'inverse, l'allèle HLA-B\*15:03 présente des peptides SARS-CoV-2 hautement conservés. On pourrait conclure que les individus porteurs de l'allèle HLA-B\*15:03 seraient protégés contre le COVID19 alors que les porteurs de l'allèle HLA-B\*46:01 pourraient être particulièrement vulnérables (Nguyen, 2020).

## **2. Antécédents des maladies et atteinte par la Covid 19**

### **2.1 Insuffisance cardiaque et hypertension**

Plusieurs études ont montré que les patients hypertendus qui ont eu des résultats COVID-19 positives pires que ceux sans hypertension (Kang et al. 2021).

### **2.2 Obésité sévère**

L'obésité considérée comme un risque depuis la première vague, Plus de 50% des patients hospitalisés en soins intensifs pour une forme grave du Covid-19 au présentaient un indice de masse corporelle supérieur à 30 (Simonnet, 2020). "Une obésité (IMC > 30) et une obésité sévère (IMC > 35 kg) sont respectivement présentes dans 47,6% et 28,2% des cas. Les chercheurs constataient alors que 85% des patients ayant un indice de masse corporelle supérieur à 35 avaient dû être placés sous respirateur (Simonnet, 2020).

Les personnes en surpoids (ou obèses) sont plus sensibles au coronavirus, car un surpoids (ou une obésité) s'accompagne généralement d'une mauvaise respiration - essoufflement à l'effort, diminution des capacités respiratoires, asthme, apnée du sommeil... ce qui favorise le développement d'une détresse respiratoire en cas d'infection par le coronavirus (Simonnet, 2020) selon certaines études, L'obésité rendrait plus sensible aux infections virales et bactériennes en atteignant directement le système immunitaire : une porte ouverte au Covid-19.

Les scientifiques ont observé que les personnes en situation de surpoids ou d'obésité souffrent souvent de maladies associées en particulier, de pathologies cardiovasculaires et diabète. Celles-ci constituent des comorbidités pour la maladie, et contribuent au développement de symptômes sévères du coronavirus (Topsante.com 2021).

### 2.3 Diabète et risque d'infection

Selon les données actuelles, les personnes diabétiques ne semblent pas être plus susceptibles à l'infection par le SARS-CoV-2. Les méta-analyses des études chinoises ont montré que la prévalence du diabète chez les patients atteints de Covid-19 était entre 8 et 10 % ce qui correspond à la prévalence du diabète dans la population générale (Fadini, 2020).

Les mêmes constatations ont été observées dans la population italienne et américaine où la prévalence du diabète chez les patients atteints de Covid-19 : 8,9 % pour la cohorte italienne et 10,9 % pour la cohorte américaine était identique à la prévalence du diabète dans la population générale, Par contre, les formes sévères et la mortalité sont plus élevées chez les diabétiques (Docherty, 2020).

L'âge avancé, l'hypertension artérielle, les maladies cardiovasculaires et l'obésité étroitement liés au diabète sont des facteurs de risque qui expliquent en partie la sévérité de Covid-19 chez les patients diabétiques. Cependant, le diabète est un facteur de risque indépendant de sévérité de l'infection. Plusieurs mécanismes sont incriminés : forte affinité et entrée cellulaire du virus, diminution de la clearance du virus, diminution de la fonction des lymphocytes T. En outre, le diabète est un état pro-inflammatoire et pro-coagulant avec production excessive de cytokines notamment l'interleukine-6, ce qui prédispose les patients diabétiques au choc cytokinique de l'infection Covid-19 (Wu, 2020).

L'enzyme de conversion de l'angiotensine de type 2 (ACE2) semble jouer un rôle particulier dans la susceptibilité du sujet diabétique à l'infection Covid-19. L'ACE2 exprimée au niveau des poumons, du cœur, des vaisseaux, des reins, du pancréas et de l'intestin peut être considérée comme une arme à double tranchant. D'une part, elle catabolise l'angiotensine 2 en angiotensine {1- 7} qui a des effets bénéfiques antiinflammatoires, antioxydants et vasodilatateurs contrecarrant les effets proinflammatoires de l'angiotensine 2 protégeant ainsi les poumons contre le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) lors de l'infection Covid-19. D'un autre côté, l'ACE2 est le récepteur cellulaire sur lequel va se fixer le SARS-CoV-2 par le biais de sa protéine de structure S (Spike) pour entrer au niveau de la cellule et se multiplier. Le virus est par la suite libéré dans la cellule grâce à l'action de protéases dont la Furin et TMPRSS2. Dans le diabète, l'expression de l'ACE2 est diminuée, le SARSCoV-2 entraîne également une régulation vers le bas (down régulation) de l'ACE2 (Pal, 2020).

On pourrait supposer que la diminution de l'expression de l'ACE2 serait bénéfique en diminuant l'entrée cellulaire du virus, mais d'un autre côté, la diminution de l'expression de l'ACE2 favorise l'inflammation pulmonaire et le choc cytokinique et il semblerait que ce soit plutôt ce risque inflammatoire qui l'emporterait chez le diabétique et qui pourrait expliquer la susceptibilité des patients diabétiques à l'infection Covid-19 (Pal, 2020).

Par ailleurs, l'expression de l'ACE2 par les cellules  $\beta$  pancréatiques peut favoriser leur infection et leur destruction par le SARS-CoV-2 prédisposant ainsi au développement de diabète de novo. Des observations d'acidocétoses diabétiques sévères au moment de l'admission pour infection Covid-19 ont été rapportées. Les diabétiques qui ont des comorbidités associées cardiovasculaire, respiratoire ou rénale sont plus à risque (Bornstein, 2020).

#### **2.4 Maladies rénales et hépatiques**

Dès les premiers mois de la pandémie, plusieurs études ont rapporté une atteinte rénale extrêmement fréquente chez les patients atteints de COVID-19. Cette atteinte peut se présenter sous forme d'une insuffisance rénale aiguë (5-35% des patients), d'une hématurie (30-40%) et/ou d'une protéinurie (40- 65%) (Cheng, 2020).

Cette atteinte rénale est associée à la survenue de complications majeures, dont l'insuffisance respiratoire, le besoin de ventilation mécanique invasive et le décès, indépendamment des comorbidités et autres facteurs de risque (Gross, 2020).

Les mécanismes et le type d'atteinte rénale au cours de l'infection par le nouveau coronavirus restent à déterminer. L'analyse par PCR d'organes de patients décédés de la COVID-19 a révélé que les reins sont parmi les organes-cibles les plus fréquemment touchés par le virus, après les poumons (Puelles, 2020).

La fréquence élevée de l'atteinte rénale est expliquée par la présence du récepteur viral ACE2 et de ses co-récepteurs à la surface de cellules rénales. Le virus est ainsi susceptible d'affecter plusieurs compartiments du rein, dont les glomérules, l'endothélium et le tubule proximal (Varga, 2020) (Farkash, 2020).

Des données récentes, non encore publiées, suggèrent une dysfonction tubulaire proximale très fréquente chez les patients avec COVID-19, causant protéinurie de bas poids moléculaire (bêta-2-microglobulinurie), aminoacidurie, hypophosphatémie et hypouricémie dans un bon nombre de cas. Ces anomalies, exceptionnelles dans la

population générale, sont spécifiques de la COVID-19 et sont associées à un pronostic défavorable. Il est donc hautement probable que l'atteinte rénale par le coronavirus puisse aider à un diagnostic précoce, et qu'elle soit un marqueur fiable de la sévérité de la COVID-19.(Morelle et al., 2020).

### **2.5 Anomalies génétiques**

Le premier article publié dans *Science* décrit ainsi des anomalies génétiques chez des patients atteints de formes sévères de Covid-19 au niveau de 13 gènes déjà connus pour régir la réponse immunitaire contrôlée par les IFN de type I contre le virus grippal. Des mutations de ces gènes sont la cause de certaines formes sévères de grippe. La principale conséquence de ces mutations est un défaut de production des IFN de type I. C'est, par exemple, ce qu'ont montré les laboratoires d'Ali Amara et Vassili Soumelis (2020) à l'Institut de Recherche Saint Louis à partir des cellules d'un patient porteur d'une mutation dans le gène IRF7(Zhang, 2020).

Quel que soit leur âge, les personnes porteuses de ces mutations sont plus à risque de développer une forme potentiellement mortelle de grippe ou de Covid-19 (Inserm, 2020).

### **2.6 Enzyme de conversion de l'angiotensine**

Le système Rénine-Angiotensine-Aldostérone (RAAS) semble jouer un rôle important dans la pathogenèse de la COVID-19. L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE ou ACE1) catalyse la synthèse de l'angiotensine-II (Ang-II) à partir d'Ang-I, et ACE2 hydrolyse Ang-II en Ang-1-7. Ang-II se lie au récepteur AT1 conduisant la vasoconstriction, la fibrose, l'inflammation, la thrombose, entre autres réponses, tandis que Ang-1-7 se lie au récepteur AT2 avec une vasodilatation accrue et une fibrose, une inflammation et une thrombose réduites. L'ACE et l'ACE2 sont ainsi considérés comme des acteurs opposés dans la balance qui détermine le risque de développer une hypertension et une maladie cardiovasculaire. Dans les poumons, ACE2 entraîne une réponse protectrice en réduisant l'œdème, la perméabilité et les lésions pulmonaires Il convient de noter que l'hypertension et les maladies cardiovasculaires sont des comorbidités fréquentes de la COVID-19 et sont fortement associées au risque d'hospitalisation et de décès chez les personnes exposées au SARS-CoV-2 (Gómez 2020)

### 3 Les mécanismes d'action du SARS-COV-2

Le cycle de vie du virus avec l'hôte comprend les 5 étapes suivantes : attachement, pénétration, biosynthèse, maturation et libération. Une fois que les virus se lient aux récepteurs de l'hôte (attachement), ils pénètrent dans les cellules hôtes par endocytose ou fusion membranaire (pénétration). Une fois que le contenu viral est libéré à l'intérieur des cellules hôtes, l'ARN viral pénètre dans le noyau pour se répliquer. L'ARNm viral est utilisé pour fabriquer des protéines virales (biosynthèse). Ensuite, de nouvelles particules virales sont fabriquées (maturation) et libérées.

Les coronavirus sont constitués de quatre protéines structurales ; Spike (S), membrane (M), enveloppe (E) et nucléocapside (N). Spike est composé d'une glycoprotéine trimétrique transmembranaire dépassant de la surface virale, qui détermine la diversité des coronavirus et du tropisme de l'hôte. Spike comprend deux sous-unités fonctionnelles ;  $S_1$  la sous-unité est responsable de la liaison au récepteur de la cellule hôte et  $S_2$  la sous-unité est destinée à la fusion des membranes virale et cellulaire. L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) a été identifiée comme un récepteur fonctionnel du CoV-SRAS. L'analyse structurale et fonctionnelle a montré que le pic pour le SARS-CoV-2 était également lié à ACE2.

L'expression d'ACE2 était élevée dans les poumons, le cœur, l'iléon, les reins et la vessie. Dans le poumon, ACE2 est fortement exprimé sur les cellules épithéliales de poumon.

Après la liaison du SARS-CoV-2 à la protéine hôte, la protéine spike subit un clivage de la protéase. Un clivage séquentiel de la protéase en deux étapes pour activer la protéine spike du COV-SRAS et du COV-MERS a été proposé comme modèle, consistant en un clivage au site de clivage S1/S2 pour l'amorçage et un clivage pour l'activation au site S'2, une position adjacente à un peptide de fusion dans le  $SS_2$  sous-unité. Après le clivage sur le site de clivage S1/S2,  $S_1$  et  $S_2$  les sous-unités restent non liées de manière covalente et le S distal<sub>1</sub> la sous-unité contribue à la stabilisation du S ancré à la membrane<sub>2</sub> sous-unité à l'état de perfusion. Le clivage ultérieur au site S'2 active vraisemblablement la pointe pour la fusion de membrane par des changements conformationnels irréversibles (figure 5).

Le pic de coronavirus est inhabituel chez les virus car une gamme de protéases différentes peut le cliver et l'activer. Les caractéristiques propres au SARS-CoV-2 chez les coronavirus sont l'existence d'un site de clivage de la furine (séquence « RPPA ») sur le site S1/S2. Le

site S1/S2 du SARS-CoV-2 a été entièrement soumis au clivage pendant la biosynthèse, contrairement au pic du SRAS-CoV, qui a été incorporé dans l'assemblage sans clivage. Bien que le site S1/S2 ait également été soumis au clivage par d'autres protéases telles que la sérine transmembranaire protéase 2 (TMPRSS2) et la cathepsine L, l'expression omniprésente de la furine rend probablement ce virus très pathogène (Yuki, 2020).

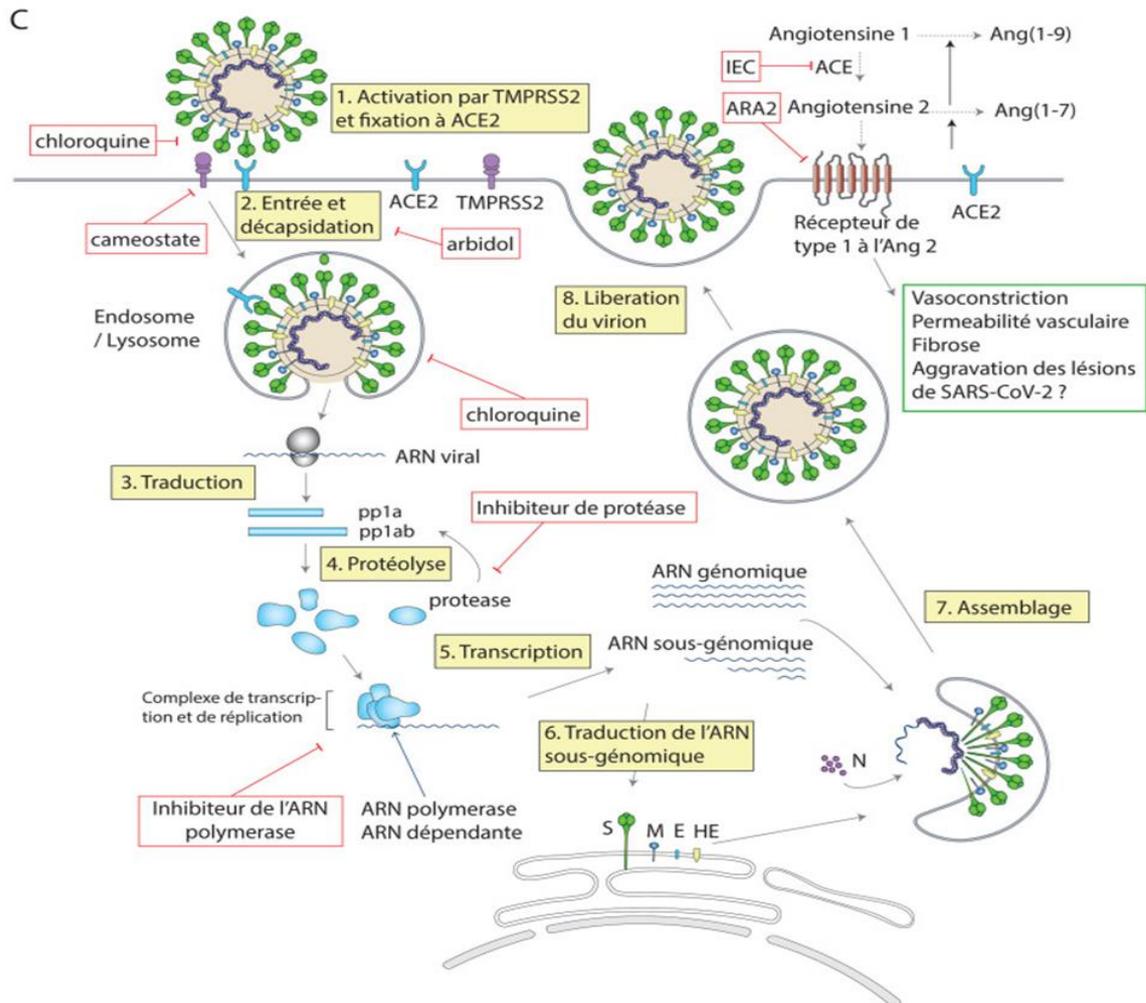


Figure 5 : structure et réplication du SARS-CoV-2 (Yuki, 2020).

Représentation de l'entrée du SARS-CoV-2 dans la cellule, principalement le pneumocyte de type 2, et de son cycle de réplication. Après fixation de la protéine S sur le récepteur ACE2 et activation par clivage de S par la protéase membranaire TMPRSS2 (1), le complexe viral est endocyté. La fusion membranaire libère la nucléocapside dans le cytosol (2) où le gène réplicase (*orf1a* et *orf1b*) de l'ARN viral est traduit en polyprotéines pp1a et pp1ab (3). La protéolyse de ces polyprotéines par la protéase encodée par *orf1a* (4) donnera les protéines formant un vaste complexe de transcription et de réplication (5). Ce complexe protéique permet de reproduire l'ARN génomique et, via la synthèse d'ARN sous-génomique, de former les protéines de structures virales (6). Les nouvelles particules virales sont assemblées à partir de l'ARN génomique, de la protéine de capsid et des glycoprotéines d'enveloppe (7). La diminution de l'expression membranaire d'ACE2 résultant de l'endocytose du complexe viral pourrait activer localement le système rénine-angiotensine-aldostérone et aggraver les lésions pulmonaires. Abréviations : ORF opening reading frame ; TMPRSS2 Transmembrane protéase serine 2 ; ACE Enzyme de conversion de l'angiotensine ; IEC inhibiteur de l'enzyme de conversion ; ARA2 inhibiteur du récepteur à l'angiotensine 2.

**CHAPITRE**

**III**

**COVID-19 et ECA 1**

## 1. L'enzyme de conversion de l'angiotensine type 1 (ECA 1)

### 1.1 Définition

L'ECA (enzyme de conversion de l'angiotensine I. peptidyl-dipeptidase A, a d'abord été identifiée comme un composant clé de système rénine-angiotensine, dont la fonction principale dans ce contexte était de transformer l'angiotensine I en angiotensine II et dégradent la bradykinine.

En association avec la rénine, il semblait que le rôle clé de l'ECA chez les mammifères faisait partie du mécanisme homéostatique responsable du maintien d'une pression artérielle normale et l'équilibre électrolytique. L'activité de l'ECA chez les mammifères est généralement reconnue en mesurant la réduction de clivage du substrat en présence d'inhibiteurs spécifiques d'ECA tels que le captopril et le lisinopril (Corvol, 1995).

### 1.2 Historique

- L'hypothèse d'un rôle du gène rénine a été évaluée à la fin des années 1980 chez une population de patients hypertendus avec antécédents familiaux d'hypertension suivis à l'hôpital Broussais en comparant la fréquence allélique de variants du gène rénine à une population témoin normotendue, sans qu'une différence puisse être notée (Soubrier al,1990).
- Les chercheurs ont montré dans certaines hypertensions familiales sévères une relation entre le génotype de l'angiotensinogène (le taux de l'angiotensinogène plasmatique) et l'hypertension artérielle (Jeunemaitre et al,1992). Il existe une relation entre le génotype I/D de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I et son taux plasmatique qui est doublé chez les patients porteurs du génotype DD (Rigat et al, 1990).
- Forte probabilité d'une participation des gènes du système rénine-angiotensine dans certaines formes d'hypertension ou dans d'autres affections telles que la néphropathie diabétique (Marre M et al, 2000).
- Parmi les résultats inattendus, il a été noté qu'en l'absence de système rénine fonctionnel, une anémie, suggérant que l'angiotensine II pourrait jouer un rôle dans l'hématopoïèse (Cole J et al, 2000).

### 1.3 Structure de la protéine et du gène de l'ECA

#### 1.3.1 Structure de la protéine

Chez les mammifères, deux isoformes de l'ECA existent, l'une est exprimée dans le tissu somatique (sACE, 1306 résidus) et l'autre dans les cellules germinales des testicules mâles (gACE, 732 résidus) (Figure 5). Les deux formes diffèrent en ce que la forme gACE a un seul site actif, tandis que sACE a deux sites actifs (figure 6).

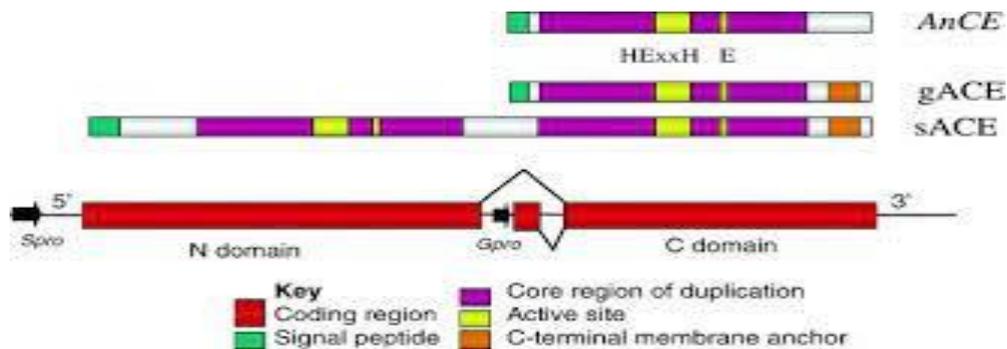


Figure 6 : Structure des gènes et des protéines de l'ACE (Coates, 2003)

La forme somatique de l'ECA est codée par une duplication en tandem formant une protéine à deux domaines avec un domaine N et un domaine C (sACE), et transcrite à partir d'un promoteur somatique en amont du gène (Spro). La forme germinale (gACE) est exprimée à partir d'un promoteur interne spécifique (Gpro) et comprend un exon spécifique germinatif. Séquences dans la région centrale (violette) montrent une très forte homologie de séquence, délimitant l'étendue de la duplication. Le ou les sites actifs (jaune) sont disposés autour des résidus qui agissent comme des ligands du zinc. Toutes les formes d'ECA ont un peptide signal N-terminal (vert). Les formes de vertébrés ont une région hydrophobe C-terminale (orange) qui agit comme l'ancre membranaire C-terminale, tandis que les isoformes d'invertébrés (illustrés par AnCE) n'ont pas la membrane ancre, et sont donc des protéines solubles extracellulaires.

#### 1.3.2 Structure du gène de l'ECA

Le gène de l'ECA humain est localisé sur le chromosome 17 en position 17q23 (Cambien et al., 1995), s'étend sur 21 kilobases, et comprend 26 exons et 25 introns. Son transcrit mature, ayant une taille de 4,3 Kb, et est transcrit du premier au 26<sup>e</sup> exon, cependant l'exon 13 est enlevé de l'ARNm par excision. L'ARNm de l'isoenzyme germinale est transcrit seulement du 13<sup>e</sup> au 26<sup>e</sup> exon (Dhar et al., 2012).

Le gène présente deux promoteurs fonctionnels, le premier codant pour la forme somatique de l'ECA est localisé du côté 5' du premier exon, alors que le deuxième promoteur du gène codant pour la forme germinale de l'ECA se situe au niveau de l'intron 12 du côté 5' de l'exon 13. Le promoteur somatique de l'ECA est actif dans plusieurs cellules alors que le promoteur germinale n'est seulement activé que dans les cellules germinales mâles (Nigel, 1996).

Les deux formes de l'ECA ont un peptide signal à l'extrémité N-terminale, requis pour le passage à travers le réticulum endoplasmique. Le peptide signal pour la forme germinale est codé par un l'exon supplémentaire 13 (Langford *et al.*, 1991).

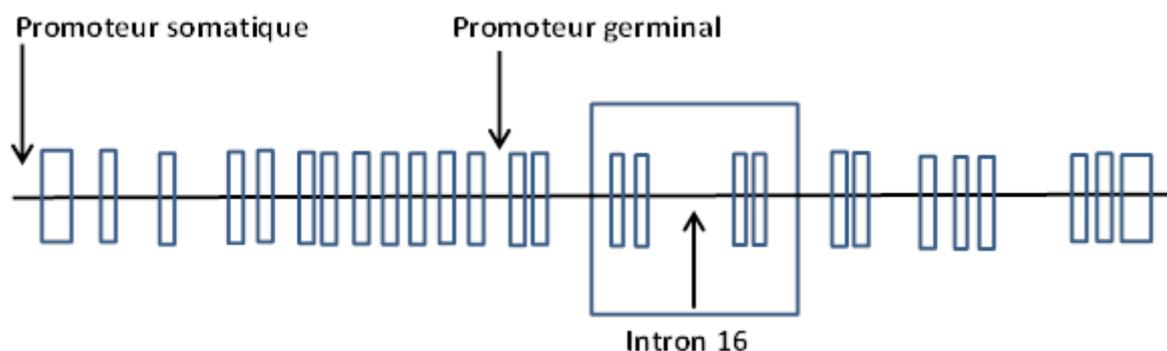
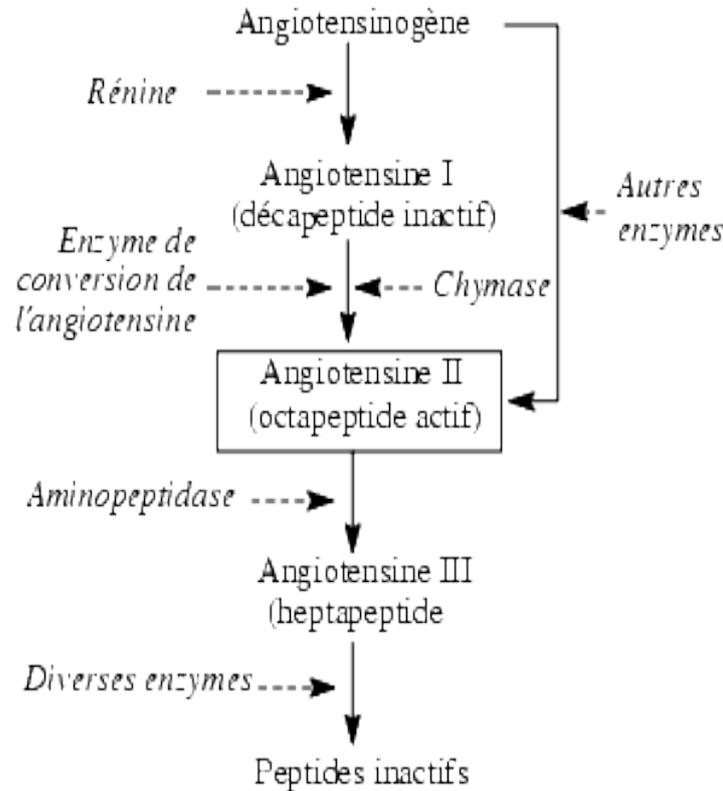


Figure 7 : Localisation et structure du gène de l'ECA (Mehri *et al.*, 2005)

#### 1.4 Métabolisme de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

La biosynthèse de l'angiotensine se fait selon deux voies :

- La voie classique connue depuis longtemps, mettant en jeu la rénine et l'enzyme de conversion.
- La voie de connaissance plus récente, mettant en jeu d'autres enzymes, une chymase jouant le même rôle que l'enzyme de conversion de l'angiotensine et d'autres enzymes permettant la transformation directe de l'angiotensinogène en angiotensine II (figure.7).



**Figure 8 : Les différentes voies de synthèse et de dégradation de l'angiotensine (Allain, 2021).**

- L'angiotensinogène est une glycoprotéine, de poids moléculaire de 50 000 à 100 000, synthétisée par le foie qui la libère dans le plasma. Sa concentration plasmatique est suffisante pour ne pas être le facteur limitant de la formation d'angiotensine I. D'autres tissus, le rein (tubule), les vaisseaux (adventice) et certaines parties du cerveau synthétisent également l'angiotensinogène.
- La rénine est une enzyme qui assure la production d'angiotensine I à partir de l'angiotensinogène. C'est une protéase acide de type aspartyl de nature glycoprotéique, de poids moléculaire d'environ 40 000, qui coupe la liaison leucine-valine et détache ainsi l'angiotensine I de l'angiotensinogène. La rénine est synthétisée, sous forme de prorénine, par la partie juxtaglomérulaire du néphron qui la libère dans le plasma sanguin où sa demi-vie est de 15 à 30 minutes et à partir duquel elle se fixe dans les tissus : foie, cœur, vaisseaux. Le rein la synthétise et les autres tissus peuvent la fixer et peut-être même la synthétiser.
- L'enzyme de conversion transforme l'angiotensine I inactive en angiotensine II active et inactive la bradykinine. C'est une enzyme à zinc présente au niveau de

l'endothélium vasculaire, plus particulièrement celui des vaisseaux pulmonaires, de l'endocarde, du cerveau. Elle est également retrouvée dans le plasma.

- L'aminopeptidase A détache l'acide aspartique de l'angiotensine II qui devient l'angiotensine III.
- La chymase est une enzyme présente dans divers tissus dont le cœur, catalyse la transformation de l'angiotensine I en angiotensine II. Son action est spécifique, c'est-à-dire qu'elle n'agit pas sur d'autres substrats tels que la bradykinine.
- D'autres enzymes, comme la cathepsine, peuvent catalyser directement la formation d'angiotensine II à partir de l'angiotensinogène.

La régulation du système est assurée pour l'essentiel par la rénine.

La deuxième voie semble jouer un rôle certain dans la synthèse d'angiotensine II mais on n'a guère de données concernant la régulation de son fonctionnement. Elle reste fonctionnelle quand la voie rénine/enzyme de conversion de l'angiotensine est inhibée (Allain, 2021).

## 2. Polymorphisme du gène ACE et ses effets biologiques potentiels

Un total de 78 variants moléculaires ont été identifiés pour le gène ACE (Rieder MJ et al, 1999). Parmi ces polymorphismes, le plus important est l'insertion ou la délétion d'une séquence de 287 pb dans l'intron 16 du gène. Cet élément Alu a été supposé être une insertion (plutôt qu'une délétion) car sa séquence a la plus grande similitude avec d'autres éléments Alu spécifiques à l'homme (Batzer MA et al, 1994) et la PCR de l'ADN de chimpanzé a révélé un fragment compatible avec un manque d'Alu (Dufour C et al, 2000).

Puisque le polymorphisme I/D est un marqueur intronique, il est fonctionnellement neutre mais il est présente un fort déséquilibre de liaison avec une autre mutation fonctionnelle non observée au sein du gène ACE. En particulier, Tiret et ses collaborateurs ont montré pour la première fois que l'activité ECA est significativement influencée par un locus de caractère quantitatif (QTL) (Tiret L et al, 1992).

Les différents degrés de déséquilibre de liaison entre le polymorphisme QTL et I/D dans différentes populations ethniques (par exemple Afro-Caraïbes, Caucasiens, Chinois, Japonais) peut expliquer certains résultats négatifs dans les études de génotype ACE I/D et troubles cardiovasculaires (McKenzie et al, 1995).

Le taux sérique intra-individuel de l'ECA est plutôt stable. Cependant, la variation interindividuelle est élevée, ce qui peut être attribué aux variants de l'ECA (Brice, 1995; Tomita, 1997).

Le polymorphisme de l'ECA a attiré beaucoup d'attention ces dernières années. Jusqu'à maintenant, le seul résultat sans équivoque est probablement le lien entre le génotype I/D et le taux sérique d'ECA. Il a été rapporté que le taux sérique d'ECA est déterminé par le polymorphisme ACE I/D dans l'ordre suivant : DD > ID > II. De plus, le polymorphisme I/D peut représenter 47% du total de la variation phénotypique de l'ECA sérique (Rigat et al, 1990). Ce résultat est confirmé dans diverses populations, y compris les centenaires français (Delanef et al, 1998), les Indiens Pima (Foy et al, 1996) et les Blancs (mais pas les Noirs) des États-Unis (Bloem et al, 1996). Puisque le polymorphisme I/D est le plus largement marqueur utilisé pour les études des maladies cardiovasculaires.

### **3. Association polymorphisme I/D du gène ACE et maladies**

#### **3.1 Polymorphisme I/D du gène ACE et Diabète**

Le polymorphisme I/D est associé à la sensibilité à l'insuline et au risque d'intolérance au glucose dans une population non diabétique. Ces données sont en faveur de l'existence d'interactions entre le système rénine-angiotensine et le métabolisme du glucose (S Maimaitiming et al, 2008).

#### **3.2 Polymorphisme I/D du gène ACE et cancer colorectal (CCR)**

Les résultats d'une méta-analyse (Zhou et al, 2015) suggèrent que le polymorphisme ACE I/D n'est pas associé au risque de CCR. D'autres études à grande échelle et bien conçues dans diverses populations sont nécessaires pour le confirmer.

#### **3.3 Polymorphisme I/D du gène ACE et infarctus du myocarde**

##### **(IM)**

Le polymorphisme I/D du gène ACE a probablement une certaine association avec l'IM chez les patients, en particulier s'il est intégré à d'autres facteurs de risque environnementaux et génétiques (Settin et al, 2009).

### 3.4 Polymorphisme I/D du gène ACE et hypertension (HTA)

Les personnes âgées hypertendues porteuses du génotype D/D du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine ont montré des réponses altérées de la pression artérielle après l'exercice aérobie, en particulier pendant le sommeil, et une variabilité de la fréquence cardiaque réduite pendant les 24 heures après l'exercice aérobie. En outre, les génotypes de l'enzyme de conversion de l'angiotensine avec la présence de l'allèle D (D/D et I/D) ont entraîné une altération de la libération d'oxyde nitrique après une séance d'exercice aérobie. Donc il y a une association avec l'HTA (Moreira et al, 2016).

## 4. Covid-19 et ACE1

### 4.1 Le système rénine-angiotensine-aldostérone (RAAS)

Le système rénine-angiotensine a été décrit comme un système endocrine par H. Goldblatt en 1934 (Goldblatt, 1947).

L'un des principaux complexes de régulation de la pression sanguine, est distribué entre le sang circulant et l'espace péricellulaire de l'interstitium tissulaire. Il participe en physiologie et en pathologie de la régulation de la vasomotricité et du remodelage tissulaire dans le système cardiovasculaire. Dans le cadre de ces effets, le système rénine-angiotensine tissulaire agit sur les cellules musculaires lisses vasculaires et les fibroblastes, tandis que le système rénine-angiotensine plasmatique a pour cibles les cellules endothéliales et les leucocytes circulants. L'angiotensine II, peptide actif du système, déclenche différentes voies de signalisation aboutissant à une réponse fonctionnelle immédiate (hypertension artérielle), puis à une réponse structurale hypertrophiant et, enfin, à des réponses pro-inflammatoires et procoagulantes.

Dans des modèles expérimentaux d'athérosclérose, la perfusion d'angiotensine II induit la formation d'anévrismes, qui a été reliée à l'activation des leucocytes circulants. Des antagonistes de l'angiotensine II ont, dans ce type de modèle, un effet bénéfique sur le ralentissement de la formation des lésions d'athérosclérose (Lannoy et al, 1997).

### 4.2 Rôle de Le système rénine-angiotensine-aldostérone (RAAS) dans la pathogenèse du COVID-19

Le système rénine-angiotensine-aldostérone (RAS) semble jouer un rôle important dans la pathogenèse de la maladie COVID-19 (Ingraham et al, 2020). L'enzyme de conversion de

l'angiotensine (ACE ou ACE1) catalyse la synthèse de l'angiotensine-II (Ang-II) à partir de l'Ang-I, et l'ACE2 hydrolyse l'Ang-II en Ang-1-7.

L'Ang-II se lie au récepteur AT1, entraînant une vasoconstriction, une fibrose, une inflammation, une thrombose, entre autres réponses ; tandis que l'Ang-1-7 se lie au récepteur AT2, entraînant une vasodilatation accrue et une réduction de la fibrose, de l'inflammation et de la thrombose. Les sites ACE et ACE2 sont donc considérés comme des acteurs opposés dans l'équilibre qui détermine le risque de développer une hypertension et une maladie cardiovasculaire.

Dans le poumon, l'ACE2 entraîne une réponse protectrice en réduisant l'œdème, la perméabilité et les dommages pulmonaires (Imai et al., 2005 ; Bao et al., 2020 ; Annoni et al., 2019). Il convient de noter que l'hypertension et les maladies cardiovasculaires sont des comorbidités fréquentes dans les cas de COVID-19, et sont fortement associées au risque d'hospitalisation et de décès chez les personnes atteints par le SRAS-CoV-2 (Zhou et al., 2020 ; Guo et al., 2020 ; Shi et al., 2020 ; Bonow et al., 2019).

Les facteurs acquis et héréditaires associés à des différences dans l'expression et la fonction des composants du SRAA pourraient expliquer les différences entre le risque de développer un COVID-19 et des événements indésirables. Par exemple, l'expression de l'ACE2 dans les poumons diminue de façon marquée avec l'âge et est plus importante chez les hommes que chez les femmes (Xie et al., 2006). Cela pourrait expliquer le risque plus élevé d'événements indésirables chez les personnes âgées et les hommes.

En général, les conditions liées avec une expression réduite de l'ACE2 augmenteraient le risque d'hypertension, d'hypertrophie cardiaque et d'insuffisance cardiaque (Patel et al., 2012 ; Luo et al., 2019). Par opposition, une activité élevée de l'ACE augmenterait le risque de maladies pulmonaires et cardiovasculaires par une activité accrue de l'axe AngII/AT1R. Des variants communs aux deux gènes ACE ont été associés au risque d'hypertension, de maladies cardiaques, d'insuffisance rénale et de maladie pulmonaire.

En fait, l'insertion/délétion (I/D) de l'ECA est l'un des polymorphismes humains les mieux caractérisés. Les personnes présentant un génotype D/D présentent les taux sanguins d'ECA les plus élevés, et cette expression accrue expliquerait le risque plus élevé de maladies cardiovasculaires et respiratoires chez les individus qui sont homozygotes par délétion. Certains auteurs ont établi un lien entre ce polymorphisme et l'issue du syndrome de détresse

respiratoire aiguë (SDRA), ainsi qu'entre ce polymorphisme et la progression de la pneumonie dans le cas du SRAS (Marshall et al., 2002 ; Matsuda et al., 2012).

Le gène ACE2 se trouve sur le chromosome X et plusieurs polymorphismes de nucléotides simples (SNP) ont été identifiés. Ces (SNP) ont été étudiés en tant que facteurs de risque d'hypertension et d'insuffisance cardiaque, notamment un changement de G en A au nucléotide + 4 de l'intron 3 (SNP rs2285666) (Van et al., 2008 ; Zhang et al., 2018 ; Lu et al., 2012). Le fait que ACE2 se trouve sur le chromosome X a été considéré comme un désavantage pour les hommes porteurs d'allèles liés à un taux d'ACE2 plus faible chez les porteurs masculins d'allèles liés à une plus faible expression de l'ACE2, et pourrait expliquer la plus grande prévalence de la COVID-19 sévère chez les hommes. Le CoV du SRAS régule à la baisse l'expression de l'ACE2 dans le myocarde, ce qui pourrait expliquer l'inflammation et les lésions myocardiques ainsi que les résultats cardiaques défavorables chez les patients atteints du SRAS (Oudit, 2004).

Les connaissances actuelles soutiennent un rôle pour le déséquilibre ACE/ACE2 dans la pathogenèse du COVID-19. Dans ce contexte, les variants de ces gènes associés à des différences dans l'expression des gènes et la fonction des protéines pourraient expliquer la prédisposition de l'individu à manifester les symptômes de la maladie et le risque d'hospitalisation et de décès (figure 8).

De plus, certains auteurs ont émis l'hypothèse que des différences régionales dans les fréquences alléliques pourraient expliquer les différences entre les maladies et le taux d'incidence et de mortalité (Yamamoto et al., 2020 ; Devaux et al., 2020 ; Delanghe et al., 2020 ; Cao et al., 2020 ; Hatami et al., 2020).

Le polymorphisme ACEI/D était associé au risque de développer une COVID-19 sévère selon du statut de l'hypertension. Le variant ACE2 rs2285666 était associé à l'hypertension dans les populations âgées, sans différence significative entre les patients COVID-19 légers et sévères (Gómez et al., 2020).

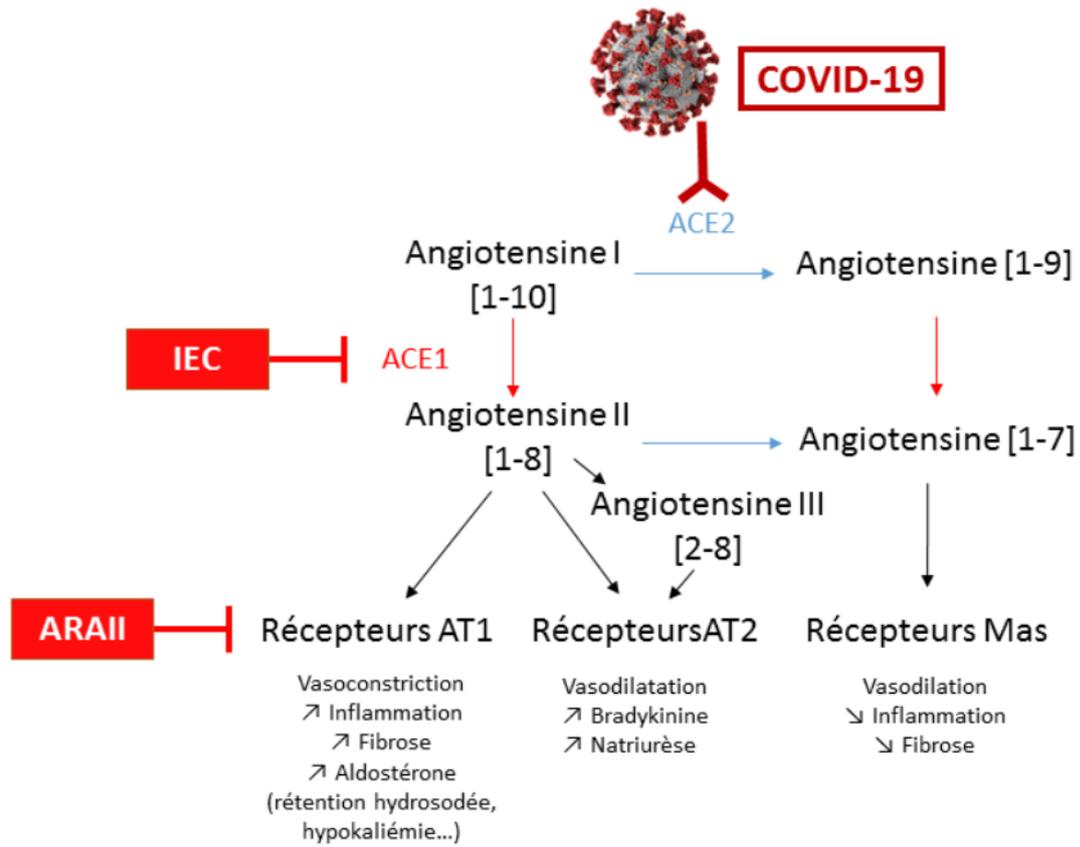


Figure 9 : Vue générale du système rénine-angiotensine-aldostérone en cas d'infection par le COVID-19 (Anne-Claire, 2020)

# **Partie Pratique**

# **Patients et méthodes**

## 1. Patients

L'étude que nous avons entreprise est transversale et prospective de type cas-témoins. Elle a été effectuée durant les mois de Mai et de Juin 2021. Notre travail pratique a été réalisé au niveau de laboratoire de Biologie Moléculaire et cellulaire (cheabet erssas) et laboratoire de Biologie Moléculaire à l'Université Frères Mentouri, Constantine.

### 1.1 Populations d'étude

Notre prospection a porté sur deux populations résident dans l'Est algérien : l'une des témoins et l'autre des malades.

#### 1.1.1 Population des témoins

Des personnes qui se sont portés volontaires appartenant à la population générale notée de référence. Cette population est formée d'un groupe de 30 sujets sains (présumés en bonne santé), des deux sexes âgés de 19 à plus de 60 ans.

#### 1.1.2 Population des malades

Cette population est constituée de 20 malades des deux sexes ayant guéris et bien rétablis après leurs affections par la Covid-19. Ils sont âgés de 24 à 60 ans.

##### ➤ Critères d'inclusion

Tout sujet ayant guéris de son infection par le coronavirus au moins depuis deux à 3 mois. Les sujets des deux sexes résidents à Constantine, âgés de 19 à 60 ans ne présentant aucune pathologie décelable cliniquement au moment de prélèvement sanguins ; ils étaient tous consentants pour leur participation à cette étude.

##### ➤ Critères d'exclusion

Les sujets refusant le prélèvement. Les sujets ayant subi une transfusion récente, et les sujets malades.

## 2. Méthodologie

### 2.1 Questionnaire

Un questionnaire a été réalisé afin d'enregistrer toutes les informations nécessaires à notre étude à savoir : l'âge, le sexe, les données cliniques et les antécédents personnels et familiaux.... (Annexe 1). Un interrogatoire minutieux est mené près des patients sélectionnés dans notre étude pendant une entrevue durant 10 à 15 minutes.

## 2.2 Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin préconisé pour l'extraction de l'ADN en vue de l'étude moléculaire a été réalisé selon les critères d'inclusions dans notre étude si le patient est consentant. Pour chaque patient, il a été recueilli stérilement dans un tube à EDTA de 5 ml de sang total.

Le prélèvement de sang a été réalisé au niveau du pli du coude après la pose d'un garrot par des professionnels de la santé (Infirmier(e)s). Les patients doivent être en position demi-assise. Les tubes portent des étiquettes portant les noms et prénoms des sujets ainsi que la date du prélèvement

## 2.3 Étude moléculaire

Notre étude moléculaire s'est effectuée selon deux étapes : une étape d'extraction de l'ADN suivie d'une PCR (polymérase chaîne réaction digestion) pour la recherche du polymorphisme I/D du gène *ECA1*.

### 2.3.1 Extraction d'ADN

Pour réaliser les études génétiques, des échantillons d'acide nucléique doivent être fournis, la source majeure d'ADN est contenue dans les leucocytes sanguins, les autres sources cellulaires peuvent être des biopsies (biopsie de villosités chorales ...). Nous avons employé la méthode non organique d'extraction utilisant du NaCl.

#### ➤ Principe

Les leucocytes sont séparés dans le sang total par lyse hypotonique et traités ensuite par un détergent (SDS) et une protéinase K. L'ADN nucléaire est libéré dans le milieu et les protéines qui lui sont associées sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl. La pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol pur (protocole en annexe).

### 2.3.2 Recherche du Polymorphisme I/D de l'ECA

Le polymorphisme I/D de l'ECA a été mis en évidence par la détection de la présence (allèle I, insertion) ou de l'absence (allèle D, délétion) d'une séquence de 287-pb dans l'intron 16 du gène de l'ECA par une technique de PCR classique d'une électrophorèse sur gel d'agarose.

#### ➤ Amplification par PCR

La PCR, réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase Chain Reaction), est une technique permettant d'obtenir, à partir d'un échantillon d'ADN, d'importantes quantités

d'une séquence d'ADN spécifique. Cette amplification repose sur la réplication d'une matrice d'ADN double brin. Elle se réalise en trois phases : une phase de dénaturation, une phase d'hybridation avec des amorces et une phase d'élongation. Les produits de chaque étape de synthèse servent de matrice pour les étapes suivantes, ainsi on réalise une amplification exponentielle.

➤ **Préparation du milieu réactionnel de la PCR**

Un milieu réactionnel de la PCR ou un mix de PCR d'un volume final de 10 µl a été préparé. Le mix comprend des désoxyribonucléotides triphosphates, une enzyme d'amplification in vitro (la Taq polymérase), un environnement réactionnel (tampon, MgCl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O) et deux amorces oligonucléotidiques (tableau 4).

**Tableau 4 : Amorces utilisées pour l'amplification du gène ECA.**

Les amorces	Séquence nucléotidique
ECA 1F (Forward)	5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGAT-3
ECA 1R (Reverse)	5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3'

Après avoir préparé le mix de la PCR (tableau 5), selon le nombre d'échantillon, nous avons pris 9 µl de ce mélange avec 1µl d'ADN dans chaque tube de PCR pour chaque sujet.

**Tableau 5 : Composants du milieu réactionnel de la PCR**

Mix	Concentration finale	Volume (µl)/tube de PCR
H <sub>2</sub> O	/	4.02
dNTP (10 mM)	2 mM	1.6
MgCl <sub>2</sub> (50 mM)	1.5 mM	0.3
Tampon 10X	1X	1
ECA 1F (20 pmol/l)	2.5 pmol/l	1
ECA 1R (20 pmol/l)	2.5 pmol/l	1
Taq polymérase	0.04 U	0.08
Total du volume	9ml	9 ml
ADN		1

➤ **Déroulement des cycles de la PCR**

Le déroulement des cycles de la PCR est assuré par un thermocycleur (Eppendorf) et les conditions d'amplification sont présentés dans le (tableau 6).

Tableau 6 : Conditions d'amplification de la PCR.

Nombre de cycles	Étapes	Température (°C)	Durée
X1	Dénaturation initiale	94	5 min
X35	Dénaturation	94	30 s
	Hybridation	57	30 s
	Élongation	72	30 s
X1	Élongation finale	72	3 min

### 2.3.3 Contrôle des produits de la PCR

#### ➤ Préparation du gel d'agarose à 2 %

Le contrôle de la PCR s'effectue sur un gel d'agarose à 2 %. Le gel est préparé en mélangeant 2 g d'agarose et 100 ml du TBE 1X (Tris Borate EDTA) additionné de 10 µl du BET (Bromure d'éthidium).

Le gel est déposé sur une plaque d'une cuve horizontale où l'on a déposé un peigne pour créer des puits de dépôt. Nous laissons le gel se polymériser à l'air libre.

#### ➤ Migration électrophorétique et révélation par autoradiographie

En fonction des génotypes, les sujets ont été classés : homozygotes II, hétérozygotes ID et homozygotes DD du gène ECA été faite par migration électrophorétique des produits de PCR sur gel d'agarose à 2%, contenant de BET (Bromure d'éthidium).

Dans chaque puits du gel, nous déposons 10 µl de produit d'amplification mélangé avec 2 µl d'un tampon de charge qui permet d'alourdir les fragments et de suivre le front de migration. Parallèlement un échantillon sans ADN (blanc), est inclu dans la série à amplifier et sert de contrôle négatif (-).

Un marqueur de poids moléculaire 100 pb est déposé dans le dernier puit pour déterminer approximativement la taille des fragments. Le dépôt se fait du côté cathode (-) et le système est soumis à une migration sous un courant de 100 volts pendant 30 minutes.

Après la migration, le gel est soumis au rayon UV. Les molécules de Bromure d'Ethidium fixées aux ADN émettent une lumière visible et photographiable et permettent de visualiser les fragments amplifiés sous forme de bandes fluorescents de même taille. Ce contrôle permet aussi de confirmer l'amplification de notre ADN et d'exclure toute contamination d'ADN survenue au cours de la PCR grâce au puits contenant le blanc.

➤ **Profil électrophorétique**

La photo de migration des amplimères du gène de l'ACE sur gel d'agarose à 2% sont donne :

- Dans le cas de l'insertion une taille des bandes attendue de 490 pb ;
- Dans le cas de la délétion, 190 pb
- Dans le cas d'hétérozygote représente deux bandes de 190 et 490 pb, ce qui nous permet d'identifier les trois génotypes : II, ID et DD (Figure 10)



Figure 10 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène ECA sur gel d'agarose 2%.



Figure 11 : Profil électrophorétique des fragments amplifiés par PCR du gène ECA sur gel d'agarose 2%.

### 3. Analyses statistiques

Dans cette étude, nous avons utilisé certains tests et lois statistiques descriptifs pour tous les résultats obtenus des paramètres étudiés et ont été traités par l'Excel

**a- Calcul de l'odds ratio**

Pour calculer l'odds ratio nous avons établi un tableau de contingence, il est présenté sous forme de tableau croisé 2×2. Le statut malade/non malade des sujets de l'étude est présenté en colonne et le caractère exposé/non exposé en ligne (Tableau 7).

**Tableau 7 : contingence pour le calcul de l'odds ratio**

	Cas (malades)	Témoins (non-malades)	Total
Présence du facteur présumé de risque de maladie (exposés)	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>a+b</b>
Absence du facteur présumé de risque de maladie (non-exposés)	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>c+d</b>
Total	<b>a+c</b>	<b>b+d</b>	<b>a+b+c+d</b>

Le calcul de l'odds ratio se fait par la formule suivante :

$$OR = a*d / b*c$$

L'odds ratio représente une mesure d'association épidémiologique entre un facteur et une maladie, en particulier lorsque la maladie est rare parmi la population (Prévalence<5%).

Dans ce cas l'odds ratio peut être une bonne approximation du risque relatif que donnerait une enquête de cohorte pour la population.

**b- Les intervalles de confiance (IC)**

Les intervalles de confiance ont été calculés par la méthode de Cornfield. L'approche estimative de l'analyse statistique vise à quantifier l'effet étudié et le degré de Certitude de cette estimation grâce à un intervalle de confiance, qui identifie généralement une fourchette de valeurs situées de part et d'autre de l'estimation et l'on peut être sur à 95% de trouvé la valeur réelle. La notion d'un intervalle de confiance repose sur l'idée suivante : Si la même étude était réalisée sur un échantillon différent de patients, les résultats ne seraient pas identiques, mais Seraient proches du résultat véritable qui reste inconnu. L'intervalle de confiance estime cette variation due à l'échantillon.

**c- Choix de la "p value"**

Le seuil critique a priori est de 0.05 (risque). Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement

significative pour apparemment arbitraire est nécessaire pour l'homogénéité de la présentation des résultats. L'usage a retenu de manière consensuelle l'ensemble des seuils (0.05, 0.01, 0.001) qui représentent des risques raisonnables pour prendre une décision. Le seuil 0.01 doit être choisi lorsqu'en complément d'une étude épidémiologique descriptive, on teste le lien entre deux variables sans que l'on puisse a priori argumenter quand il existe une relation logique entre ces variables.

Dans notre étude on a utilisé le logiciel « statistiques médicale et épidémiologiques » pour vérifier nos résultats

# Résultats et Discussion

Dans cette partie expérimentale, nous avons procédé en la répartition et au classement des cas ayant contracté la Covid19, en fonction de facteurs de risque : sexe et de l'âge et IMC au moment du diagnostic. Ensuite, ont été prises en considération certaines caractéristiques cliniques et paramètres épidémiologiques : symptômes, antécédents des pathologies et mode de contagiosité ... Puis nous nous sommes intéressés à décrire l'aspect génétique concernant les groupes sanguins et le génotypage (I/D) de l'ECA dans les deux populations de témoins et celle des malades.

### 1. Etude statistique

#### 1.1 Facteurs de risque

##### 1.1.1 Répartition des patients selon le sexe



**Figure 12 : Répartition des patients selon le sexe.**

Dans notre étude, nous remarquons que la COVID-19 est présente dans 80% des cas chez les femmes (Figure 12). Cette prédominance féminine ne confirme pas les données de la littérature de toutes les références consultées qui montrent qu'il y a une prédominance masculine avec 58.1 % chez les hommes versus 41,9 % chez les femmes (DGPPS Algérie, 2020).

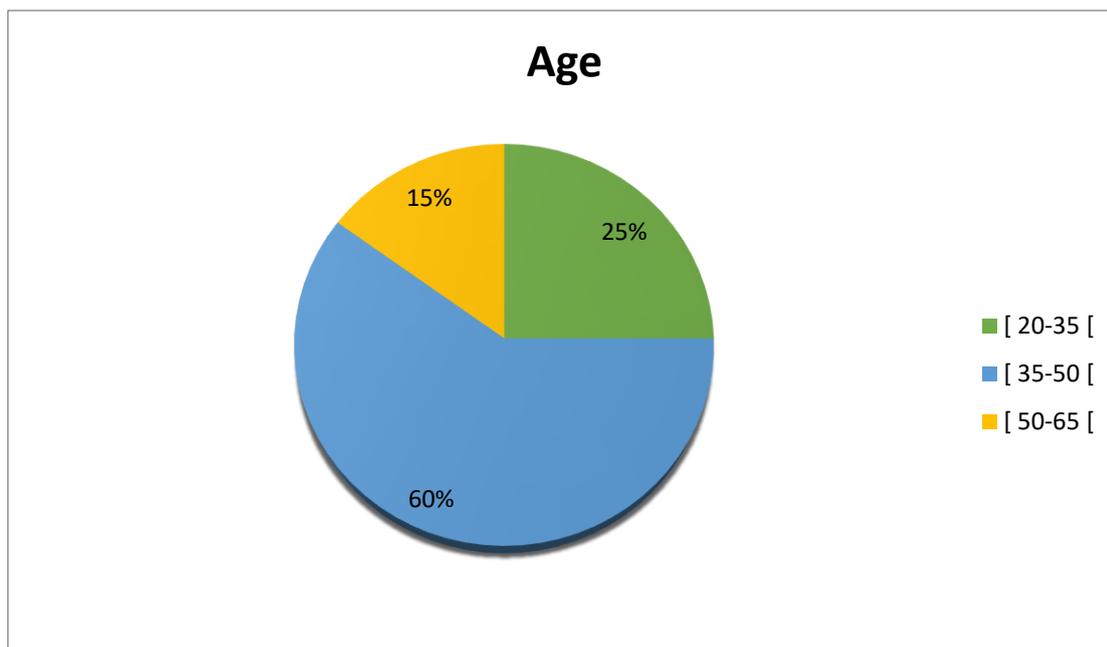
Ainsi, la probabilité de détecter la COVID-19 chez les hommes infectés est 1,6 fois plus élevée en Suisse, deux fois plus élevée aux Pays-Bas et même 2,6 fois plus élevée en Thaïlande par rapport aux femmes infectées. Tandis que 53% de toutes les personnes testées positives au SARS-CoV-2 en Suisse sont de sexe féminin, les femmes ne représentent que 40% de toutes les hospitalisations liées à la COVID-19 et 42% de tous les décès liés à la

maladie. A l'échelle européenne, la proportion d'hommes hospitalisés en unité de soins intensifs est encore plus élevée, s'élevant à 70–80% (Steck, 2021).

On peut expliquer la prédominance féminine dans notre étude par les raisons suivantes :

- il y a plus de participation des femmes qui ont accepté de nous aider dans notre étude.
- les femmes survivent plus que les hommes, ce qui reflète leur nombre.

### 1.1.2 Répartition des patients selon l'âge

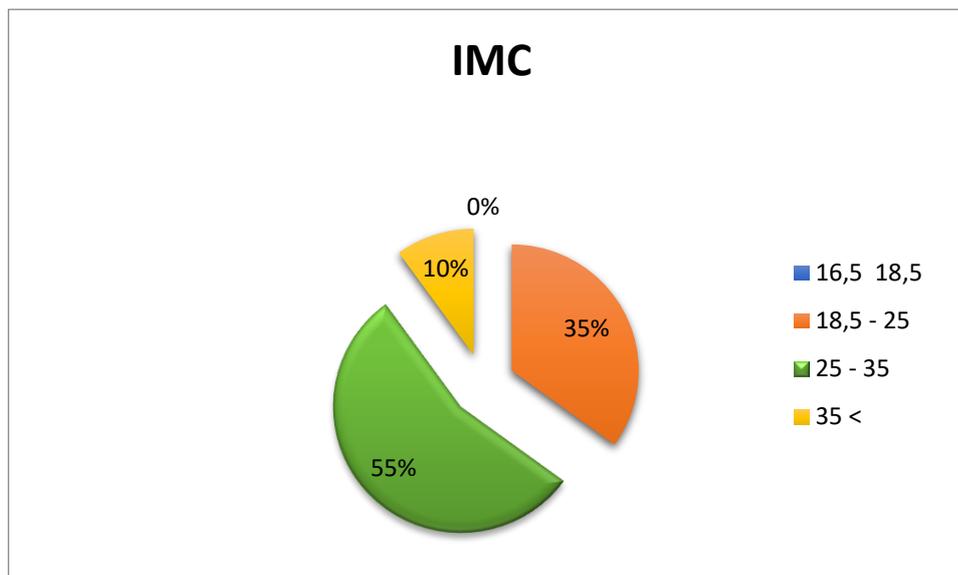


**Figure 13 : Répartition des patients selon les tranches d'âges.**

Selon les données obtenues, on peut constater que la tranche d'âge la plus touchée est celle comprise entre 35 et 50 ans, dont la proportion s'élève à 60%. Ce résultat est en accord avec l'étude algérienne menée par (Abdelbassat et al 2020), ainsi que d'autres travaux étrangers (Carignan ,2020). Vient ensuite les patients âgés entre 20 et 35 ans avec une proportion de 25% et en troisième lieu les patients âgés entre 50 et 65ans pour une proportion de 15%. On remarque que l'ordre de contraction des tranches d'âge par le SARS-COV-2 convient avec le taux de certains chiffres enregistrés par l'Institut national de santé publique du Québec ((« Données COVID-19 par âge et sexe au Québec » 2021)

Nos résultats ne présente aucun cas de COVID19 chez les enfants n'a été enregistré. Aux USA, parmi 149 000 cas de COVID-19, 1,7% étaient des enfants et seulement 5,7 % étaient hospitalisés. Selon (Mercier, 2020), au fur et à mesure que la pandémie à COVID-19 se développait dans les différentes régions du monde, il était constaté que les enfants ne constituaient qu'une faible proportion (2 %) des patients infectés.

### 1.1.3 Répartition de la population selon l'indice de masse corporelle (IMC)



**Figure 14 : Répartition de la population selon l'indice de masse corporelle (IMC)**

Les résultats de notre étude montrent qu'il y a 10% des sujets qui sont obèses ( $IMC > 35$ ) sans négliger les 55% présentant un surpoids ( $25 < IMC < 35$ ) alors que 35% des patients avec poids normal. Il semble qu'il existe une association entre l'obésité et l'infection par la COVID-19 dans notre étude (figure 14).

Nos résultats rejoignent plusieurs études qui ont montré que l'obésité accroît le risque de contamination par la COVID-19 : Une prospection réalisée sur 8699 patients souffrant de COVID-19 et traités en USI en Angleterre a révélé que 35,2 % d'entre eux étaient en surpoids, 31,0 % étaient obèses, et 7,6 % souffraient d'obésité morbide

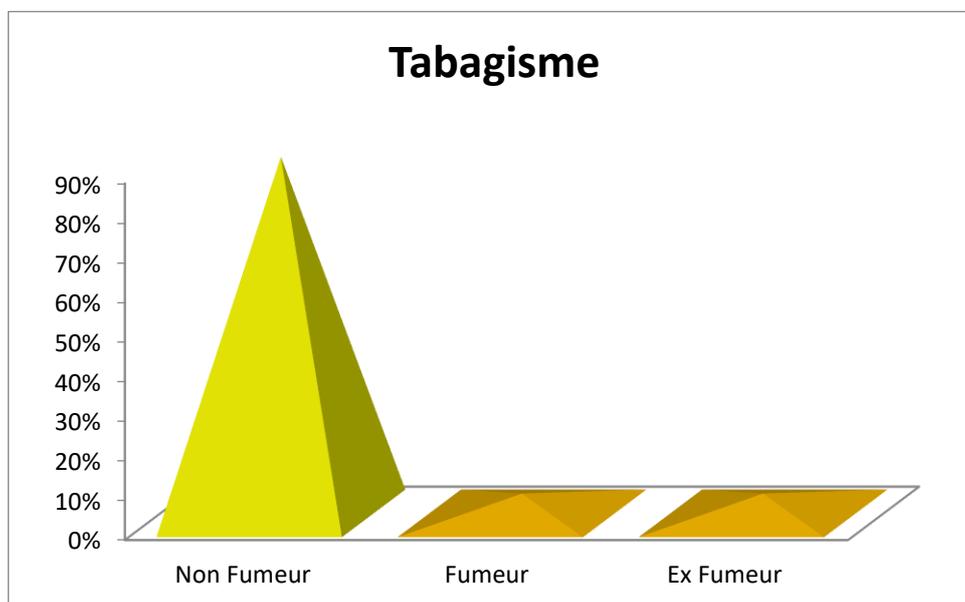
Une autre étude réalisée au Royaume-Uni conclut que la surcharge pondérale augmente de 44 % le risque contamination par la COVID-19 (Popkin et al, 2020). En outre, on a démontré que l'obésité est la comorbidité la plus fréquente (42 %) chez les patients atteints de la forme grave de la COVID-19 (Zhou Y et al, 2019).

Il a été également prouvé que les patients obèses sont potentiellement plus contagieux que les personnes sveltes. L'obésité prolonge la durée de l'excrétion virale. Les patients obèses ont tendance à excréter le virus pendant une durée plus longue de 42 % par rapport aux personnes qui ne sont pas obèses (Zhou Y et al, 2019 ; Abdalazim A et al, 2020). L'excrétion virale prolongée peut être liée à la réduction de la capacité à produire des interférons, ce qui peut permettre le prolongement de la réplication du virus (Abdalazim A et al, 2020).

Comme d'autres comorbidités, l'obésité est liée aux graves problèmes de santé. Plusieurs études ont établi une corrélation étroite entre l'obésité et un risque élevé de progression de la maladie, notons une hausse des hospitalisations et des admissions en unité de soins intensifs (USI), nécessitant souvent la ventilation mécanique. (Huang Y et al, 2020 ; Zhou Y et al, 2019).

Même si les personnes âgées de moins de 60 ans développent souvent la forme bénigne de la maladie, mais leur hospitalisation est étroitement liée à l'obésité (Yang J et al, 2020).

### 1.1.4 Répartition des patients selon le tabagisme



**Figure 15: Répartition des patients selon le tabagisme**

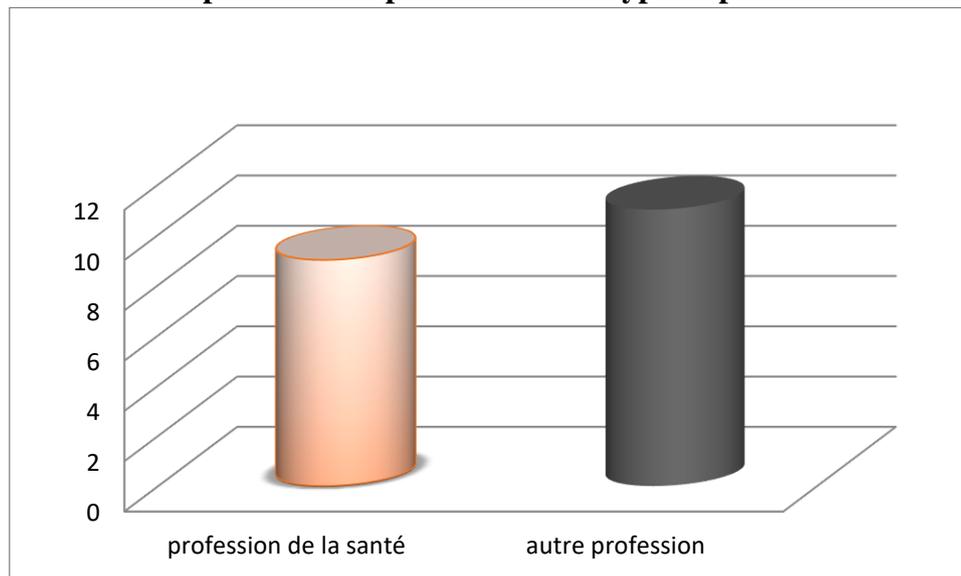
Dans notre population d'étude, la quasi-totalité de nos cas sont des non-fumeurs, ceci est expliqué par la prédominance féminine (80%) dans notre échantillon, les femmes ne fument pas dans la majorité des cas.

Donc nos résultats ne sont pas en accord avec la plupart des études qui confirment que le risque d'infection par la covid-19 augmente en fonction de la consommation du tabac :

L'usage du tabac sous toutes ses formes, qu'il s'agisse de fumer ou de mâcher, est associé de façon significative à des résultats graves liés à la COVID-19. Il a été constaté que les comorbidités préexistantes chez les utilisateurs de tabac, telles que les maladies cardiovasculaires, le diabète, les maladies respiratoires et l'hypertension, aggravaient davantage les manifestations de la maladie, ce qui rendait le traitement de ces patients

atteints de COVID-19 plus difficile en raison de leur détérioration clinique rapide (Gupta, Nethan, et Mehrotra 2021).

### 1.1.5 Répartition des patients selon le type de profession



**Figure 16 : Répartition des patients selon le type de profession**

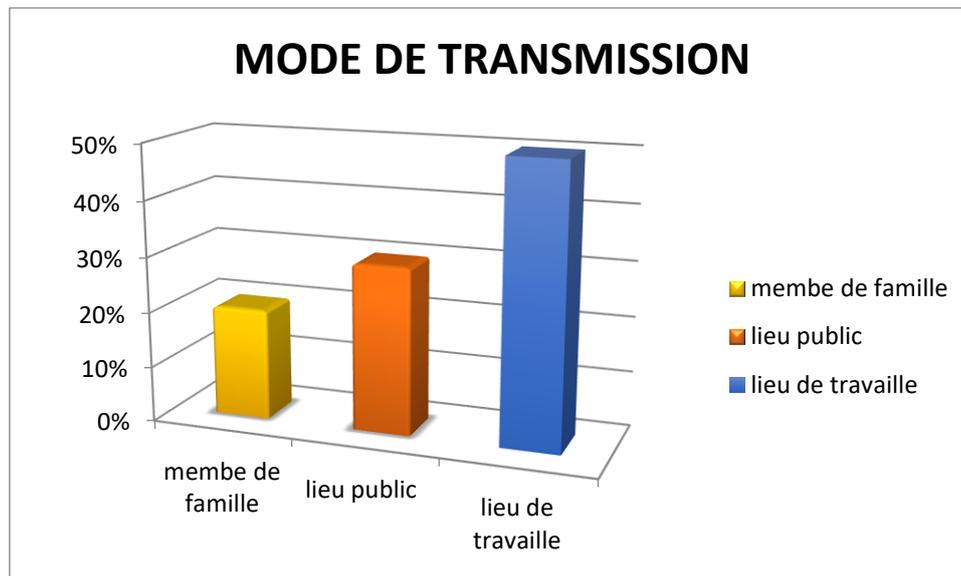
Notre étude montre que les patients qui travaillent dans le secteur de la santé semblent moins touchés par l'infection (8 patients) que ceux qui exercent d'autres professions (12 patients) (figure 16). Ces résultats sont en accord avec les résultats de l'étude menée par l'OMS qui montrait que les professionnels de la santé représentent 2.09 % des personnes infectées (OMS,2020).

On peut expliquer ces résultats que les professionnels de la santé sont plus prudents et soucieux d'appliquer les consignes de prévention, contrairement à ceux qui travaillent dans d'autres secteurs. Cependant on ne peut le confirmer car il y avait eu de nombreux cas victimes de coronavirus dans le secteur de santé entre état graves et même des décès.

En outre, le respect des consignes de précaution et de sécurité découle d'un caractère personnel qui ne se rapporte pas avec le type de fonction de la personne, ainsi, malheureusement le coronavirus a eu de ceux les plus prudents.

## 1.2 les paramètres épidémiologiques

### 1.2.1 Répartition de la population selon le mode de transmission de virus



**Figure 17 : Répartition de la population selon le mode de transmission d'infection**

Notre étude a révélé que le mode de transmission de la maladie est largement sur le lieu de travail de 50%, suivi par les lieux publics de 30%, cela justifie le manque de respect des méthodes préventives dans les lieux de travail et les lieux publics. En revanche, la transmission de l'infection par les membres de la famille occupe le dernier rang avec 20% (figure 17). En comparaison avec les résultats de l'étude menée par La Hanzhong Université of Science and Technologie (en Chine), dont on a étudié des données médicales concernant 105 patients adultes diagnostiqués "positifs" au Covid-19 ainsi qu'à leurs 392 contacts familiaux - conjoints et enfants. Leurs résultats indiquent que le taux de contamination chez les contacts familiaux était d'environ 16,3 %, ce qui signifie qu'une personne atteinte par le Covid-19 aura environ 1 chance sur 6 de transmettre le coronavirus Sars-Cov-2 aux membres de sa famille.

Il est à noter que le taux de contamination était plus élevé dans le cas de conjoint(e)s des malades (d'environ 27,8 %). En revanche, le taux de contamination chez les enfants était plus faible (d'environ 4 %) (OMS ,2021)

### 1.2.2 Répartition de la population selon le lieu de transmission



**Figure 18 : Répartition de la population selon le lieu de transmission**

Selon les réponses révélées par les sujets étudiés (figure 18), on note que le taux de transmission de la maladie dans la ville de résidence a été estimé à 60% du nombre total de personnes infectées, alors que 40% de personnes infectées ayant voyagé pendant la période pandémique.

Selon l’OMS, la propagation du virus est fortement augmentée dans clusters se situant dans les moyens de transport, sachant que les trains et les avions sont généralement des environnements clos, les risques de contaminations entre les passagers augmentent exponentiellement entre l’environnement de transport, la configuration des passagers et le temps de voyage. Ce qui a induit des décisions de la majorité des gouvernements à réduire, voire à stopper la circulation des différents moyens de transports publics, aériens, ferroviaires, terrestres et marins.

### 1.3 Les caractéristiques cliniques

#### 1.3.1 Répartition des patients selon les symptômes apparus.

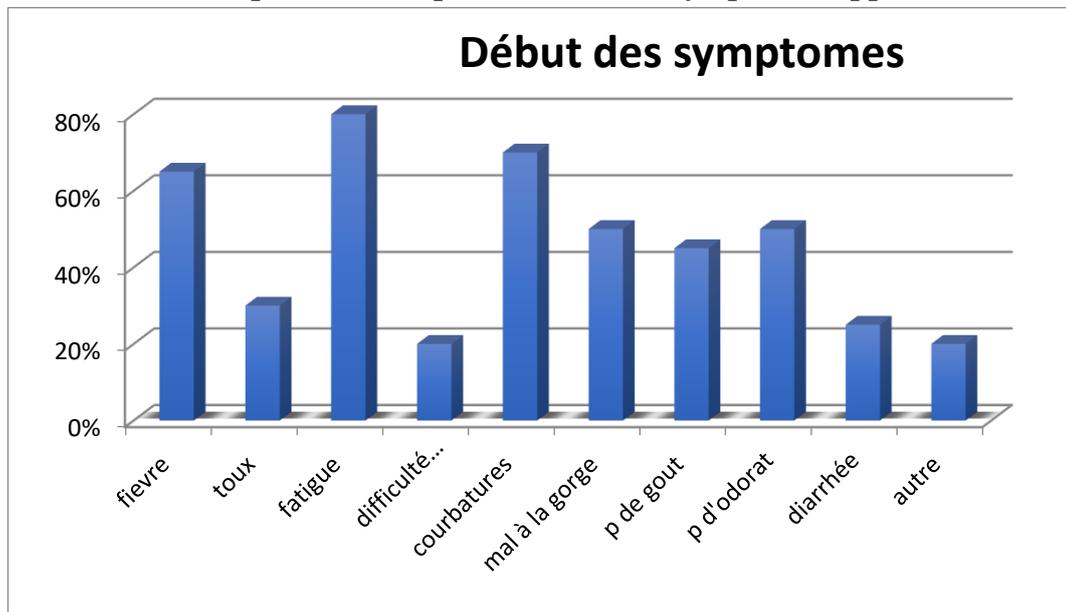


Figure 19: Répartition des patients selon les symptômes apparus.

Concernant les signes cliniques et les plaintes notées par nos patients , on constate que la fatigue, les courbatures et la fièvre sont les symptômes les plus répandus avec 80%,70% et 65% respectivement.

D'autres symptômes non spécifiques, notamment le mal de gorge, la toux, la difficulté respiratoire, et la diarrhée, ont été également signalés (50%, 30-20%). Une perte de l'odorat (anosmie) ou du goût (agueusie), qui précède l'apparition des symptômes respiratoires, a été souvent décrite dans plusieurs études telles celles de Chow et Tong qui confirment que les symptômes les plus remarquables de la COVID-19 sont fièvre (87,9 %), toux (67,7 %), myalgies (44 %), pharyngite (13,9 %), céphalées (13,6 %), vomissements (5 %), diarrhée (3,7 %) et même quelques cas de conjonctivite (0,9 %).

L'absence de fièvre au moment du diagnostic dans quelques cas, ce qui rend plus difficile leur détection (Chow,2020 ; Tong,2020).

### 1.3.2 Répartition des patients selon l'état de conscience

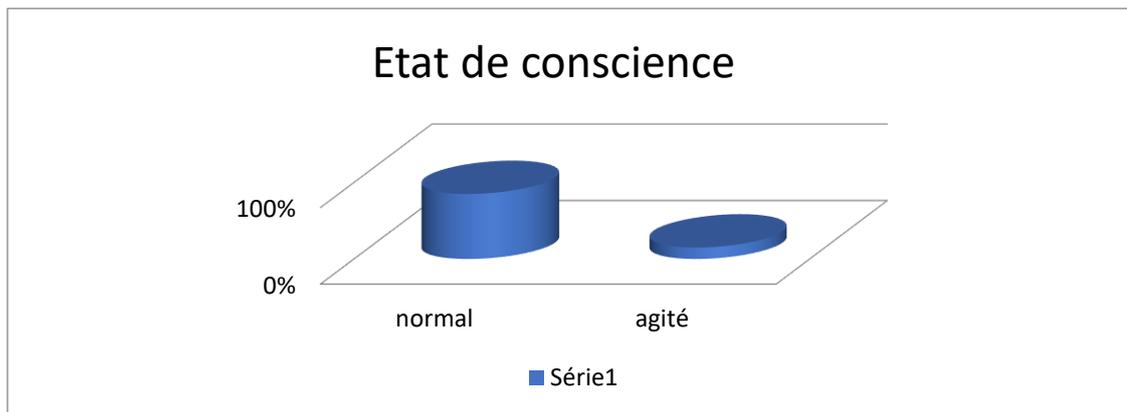


Figure 20: Répartition des patients selon l'état de conscience

Dans notre étude, nous remarquons que l'état de conscience de la majorité des patients est normale 80% et seulement 20% des patients sont agités. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude menée par Juan Gómez et son équipe ou était l'étude sur 204 patients COVID-19 (137 cas non sévères et 67 cas sévères) (Gómez J et al,2020).

Nous pouvons expliquer nos résultats par le fait que notre population est majoritairement composée de jeunes qu'ils ont plus de résistance à l'atteinte.

### 1.3.3 Répartition des patients selon le type de test effectué

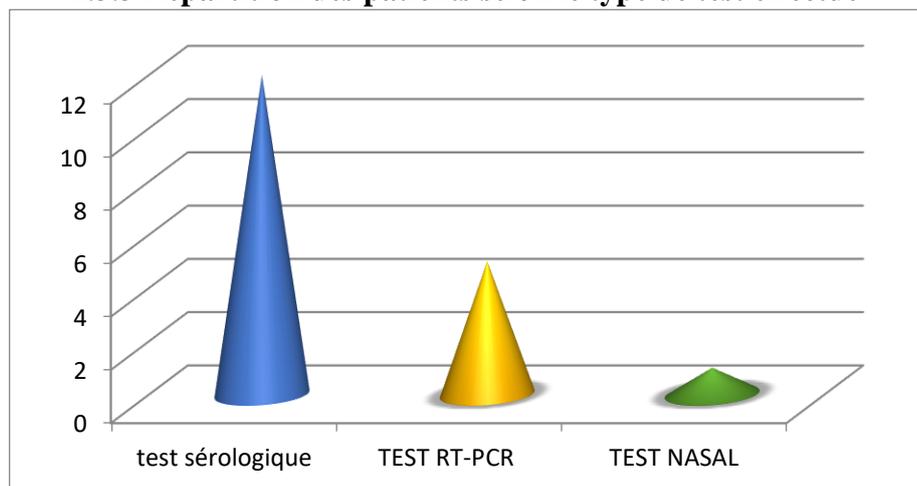


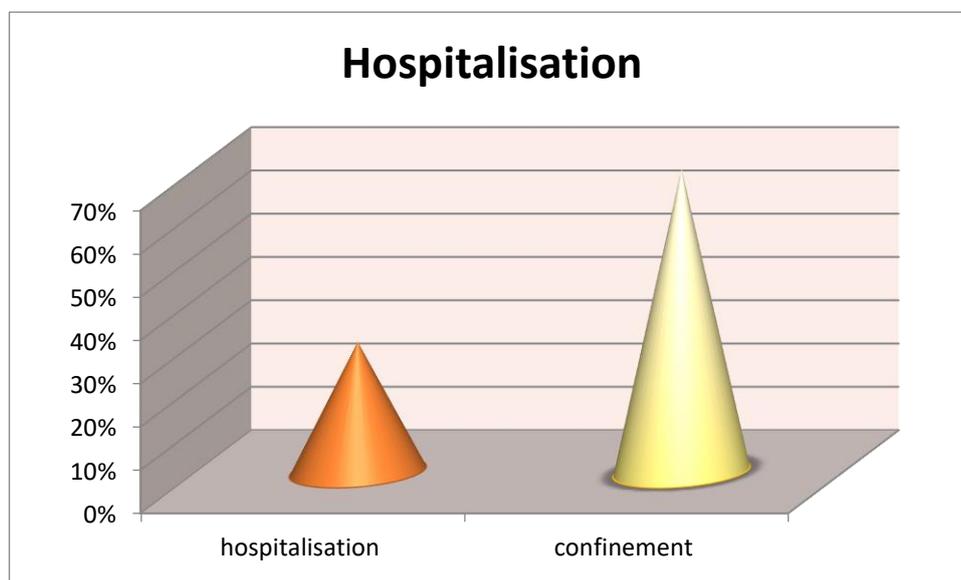
Figure 21 : Répartition des patients selon le type de test

Dans notre étude, nous notons que pour la majorité des patients, le diagnostic de la maladie de COVID-19 a été effectué par le test sérologique (12 patients) cela est dû à la faisabilité et l'efficacité de cette analyse pour la détection des anticorps IgG et IgM. Ce dernier est une indication de la présence du virus dans l'organisme. Quant au test RT-PCR a été réalisé pour 5 patients et dont la performance est garantie ce qui aide à détecter le virus à tout moment

de l'infection surtout chez les cas avancés. Le test sérologique NASAL est très peu utilisé (1 patient) (Figure 21).

Nos résultats sont en accord avec l'étude menée par Service Presse - Haute Autorité de Santé (HAS) dans laquelle elle prouve que les tests sérologiques peuvent être utilisés de façon optimale à partir d'une semaine après l'apparition des symptômes et chez tous les patients au 14ème jour et ils détectent des anticorps spécifiques produits par l'organisme et dirigés contre le virus SARS-CoV2 et les tests RT-PCR permettent un diagnostic lors de la phase aiguë du COVID-19 (Florence Gaudin, 2020).

### 1.3.4 Répartition des patients selon le type de prise en charge



**Figure 22: Répartition des patients selon l'hospitalisation**

A partir de nos résultats nous observons que 30% des sujets inclus ont été admis à l'hôpital (figure22) alors que les reste a reçu un confinement à la maison. Ces fréquences sont en accord avec de nombreuses études : de Richardson et al 2020 aux USA, de Chaolin Huang et al 2020 en Chine et de Docherty et al 2020 au Royaume-Uni, qui rapportaient une fréquence d'admission à l'hôpital de 14,2 %, 32 % et 17 % respectivement.

Nos résultats pourraient être expliqués par le fait que notre population est majoritairement composée de jeunes, En effet, les personnes jeunes sont beaucoup plus sujettes à présenter des formes simples, peu symptomatiques ou asymptomatiques de la maladie, quoique quelques formes graves ont été décrites chez des sujets jeunes dans la littérature (Plaçais L et al,2020).

### 1.3.5 Répartition des patients selon les antécédents pathologiques

Tableau 8 : Répartition des patients selon les antécédents pathologiques

Antécédents Pathologiques	N	%
la migraine	1	5
Thyriodectomie	1	5
Hypothyroïdienne	1	5
Allergie	2	10
Aucun	15	75

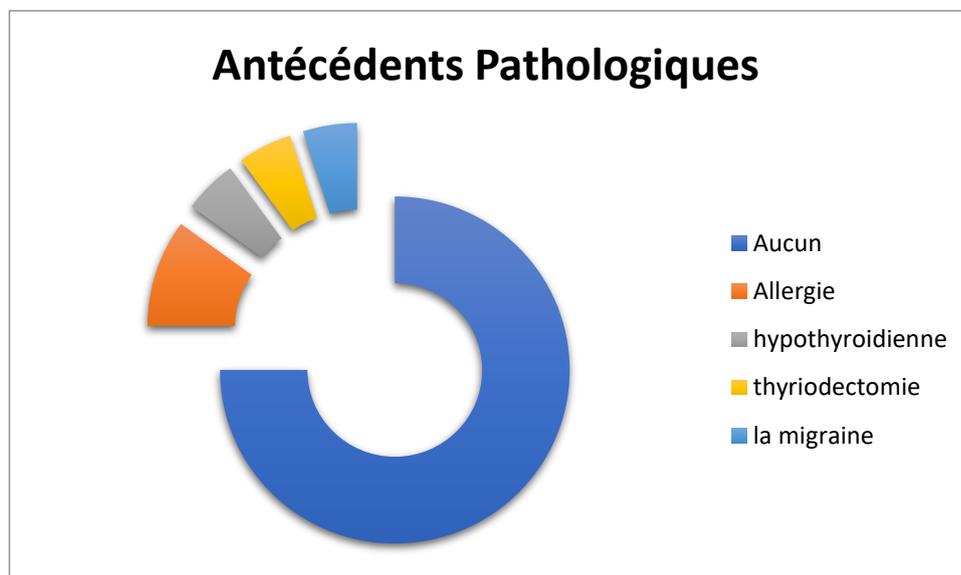


Figure 23 : Répartition des patients selon les antécédents pathologiques

Dans notre recherche nous avons suspecté plusieurs antécédents de maladies qui pouvaient aggraver l'état de la personne affectée par la covid19, cependant le groupe des sujets inclus n'a présenté que dans 5% de la migraine, 5% thyroïdectomie 5%, l'hypothyroïdienne et 10% 'allergie (tableau 8) et la plupart des patients ne souffrent d'aucune autre maladie (75 %), cela de peut déduire aucune relation significative entre les antécédents de pathologies et la covid19.

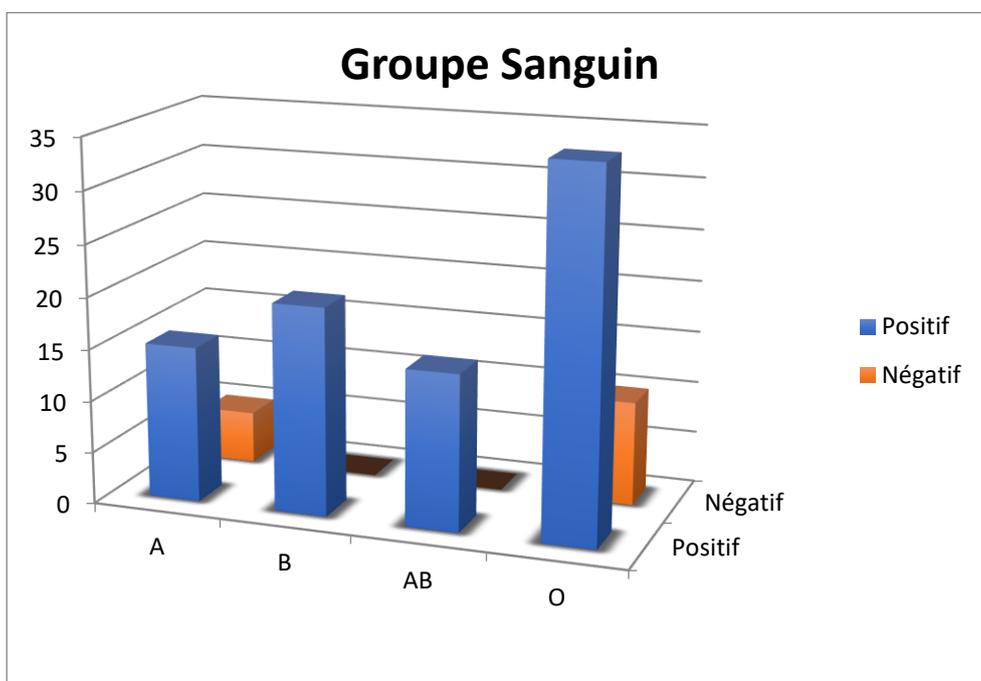
Nos résultats ne concordent pas aux résultats de la littérature à cause de nombre limité de patients inclus dans notre recherche .

Cependant plusieurs l'études ont signalé l'impact de maladies préexistantes telles que l'hypertension, les maladies cardiaques, les maladies pulmonaires (allergie), le cancer ou le diabète (OIM,2020) sur le développement d'une forme grave de COVID-19 en particulier les personnes âgées.

Cette association de maladies rend le traitement de ces patients atteints de COVID-19 plus difficile en raison de leur détérioration clinique rapide (Gupta, Nethan, et Mehrotra 2021).

## 2. Etude génétique

### 2.1 Predisposition génétique due aux groupes sanguins



**Figure 24: Répartition des patients selon groupe sanguin.**

Dans notre étude, nous avons trouvé un taux d'infection modérément augmentée (figure 24) parmi le groupe sanguin O et parmi les individus Rh-positif 35%. Ce résultat semble être une preuve d'associations entre les groupes sanguins ABO et Rh et COVID-19 dans notre population. Les patients aux groupes sanguins B, AB et A successivement semble avoir des fréquences proches. Contrairement à certaines études dans lesquelles il a été affirmé que la prévalence d'infection est élevée parmi les groupes sanguins non-O et parmi les individus Rh-positif. Le risque d'intubation était augmenté parmi les types AB et B et types A (Zietz M et al, 2020).

On peut expliquer cette différence de résultats par :

-le risque de décès était augmenté chez les individus de type AB et les types A, B et Rh-positif en raison de notre étude basée sur des patients ayant déjà récupéré.

- la petite taille de notre échantillon non représentative statistiquement

### 2.2 Étude de polymorphisme (I/D) de l' ECA

L'étude génétique du polymorphisme de l' ECA I a concerné 31 témoins et 12 malades.

Le polymorphisme I/D du gène ECA indique la présence de formes délétères ou insérées pour une séquence de 190 Pb montre l'existence de deux allèles : I (Insérée) de 490 Pb et D (Délété) de 190 Pb, donc on a Trois génotypes sont possibles, deux homozygotes (II et DD) et un hétérozygote (ID).

#### 2.2.1 Répartition des fréquences génotypiques du gène ECA

Le tableau 9 montre la comparaison des fréquences génotypiques entre les témoins et les malades atteints de Covid 19

**Tableau 9 : fréquences alléliques de l'ECA chez les deux groupes**

	Témoins		Covid 19	
	N	%	N	%
I/I	2	6.45	0	0
I/D	16	51.61	0	0
D/D	13	41.93	12	100
Total	31	100	12	100

Nos résultats montrent une fréquence élevée du génotype I/D considéré comme le génotype normal chez les témoins 51.61 %, suivi par le génotype D/D qui est présent par 41.93% et enfin le génotype I/I avec une fréquence très réduite (6.45). Cette répartition n'est pas respectée dans le groupe de nos malades du moment que tous appartiennent aux génotypes homozygote DD avec 100 % (tableau 9)

#### 2.2.2 Répartition des fréquences alléliques du gène ECA

**Tableau 10: Répartition des fréquences alléliques du polymorphisme I/D de l'ECA**

Allele	I	D

	Nombre	%	Nombre	%
<b>Témoins</b>	10	32.25	21	67.74
<b>Covid 19</b>	0	0	12	100

Selon le calcul des fréquences alléliques, nous remarquons que l'allèle I est présent chez le tiers des témoins alors que l'autre allèle D présente les deux tiers, cependant chez la population des patients Covid19 on note une absence totale de l'allèle I.

D'après ces résultats on peut expliquer une association de l'allèle D avec l'infection par la Covid19 où on peut déduire que les porteurs de génotype DD sont plus prédisposés à être infecter.

Selon les calculs effectués par le site de statistique médicales et épidémiologiques afin de mesurer le degrés d'association de facteur D dans le groupe des malades et des témoins ainsi le test de Q yules égale à 1 (IC 95%) ce qui confirme une forte association entre cet allele et l'infection par la covid

Cependant la taille de notre échantillon ne permet pas de tirer aucune constatation qui confirme une liaison de covid et la présence de l'allèle D.

et la liaison entre un facteur d'exposition et une maladie		
	Malades (Cas dans les enquêtes cas/témoins)	Non malades (Témoins dans les enquêtes cas/témoins)
Exposés	A 12	B 21
Non exposés	C 0	D 10
5.04	<b>X<sup>2</sup> (Khi carré ou chi carré)</b> : test de liaison permettant de vérifier s'il existe une relation entre le risque d'exposition et la maladie	
2.24	<b>Ecart-réduit</b> (loi normale) : <a href="#">interprétation</a>	
1	<b>Coefficient Q de Yule</b> : <a href="#">interprétation</a> (il mesure l'intensité de la liaison entre les deux variables (maladie/risque dû à l'exposition)	
36.36	% <b>Taux de la maladie chez les individus exposés</b> = T(ex) = (A/A+B)	
0	% <b>Taux de la maladie chez les individus non exposés</b> = T(nex) = (C/C+D)	
27.91	% <b>Taux de la maladie chez l'ensemble des individus étudiés</b> = Tt = (A+C/A+B+C+D). Selon l'enquête ce taux peut la <b>prévalence</b> ou l' <b>incidence</b>	
14.5	% - <b>Intervalle de confiance à 95 % pour le taux de la maladie chez l'ensemble des individus étudiés</b> : borne inférieure	
41.32	% - <b>Intervalle de confiance à 95 % pour le taux de la maladie chez l'ensemble des individus étudiés</b> : borne supérieure	
100	% <b>Taux d'exposition au facteur de risque étudié chez les individus malades</b> = (A/A+C)	
67.74	% <b>Taux d'exposition au facteur de risque étudié chez les individus non malades</b> = (B/B+D)	
36.36	% <b>Risque attribuable (RA)</b> ou (en excès) : c'est la différence entre les taux de la maladie chez les individus exposés et non exposés = T(ex) - T(nex)	
Infinity	<b>Risque relatif (RR)</b> = Le rapport des taux de la maladie chez les individus exposés et non exposés = T(ex)/T(nex) = (A/VA+B)/(C/C+D)	
Infinity	<b>Odds Ratio (Rapport des cotes)</b> = (A*D/B*C) : <a href="#">interprétation</a>	
NaN	- <b>Intervalle de confiance pour Odds Ratio (Méthode Woolf)</b> : borne inférieure	
Infinity	- <b>Intervalle de confiance pour Odds Ratio (Méthode Woolf)</b> : borne supérieure	
Infinity	- <b>Intervalle de confiance pour Odds Ratio (Méthode Miettinen)</b> : borne inférieure	
Infinity	- <b>Intervalle de confiance pour Odds Ratio (Méthode Miettinen)</b> : borne supérieure	

Certaines études se sont intéressées au même objectif que le nôtre afin d'évaluer l'association de polymorphisme de ECA et Covid tel que l'étude de (Jaroslav 2021) qui a conclu de sa part que le polymorphisme ACE I/D pourrait avoir le potentiel de prédire la gravité de COVID-19, les homozygotes I/I étant à risque accru de COVID-19 symptomatique.

Ainsi d'autres chercheurs indiquent que le déséquilibre ACE1/ACE2 prédit que les patients covid-19 avec l'allèle D d'ACE1, en particulier le génotype DD auront une gravité plus élevée de la maladie. Ces données sont réconfortées par une prospection qui suggère que le génotype ACE1 peut avoir un impact sur l'incidence et les résultats cliniques de COVID-19 et servir de marqueur prédictif du risque et de la gravité du COVID-19 (Sushma Verma, 2021)

Cependant, un autre rapport a révélé que le polymorphisme d'I/D ACE1 n'est pas directement lié à la susceptibilité à l'infection par le COV-SRAS ni au développement du SRAS (Yamamoto et al. 2020).

# **Conclusion et perspectives**

La pandémie Covid-19 a engendré une crise sanitaire sans précédents depuis plus d'un siècle. Les variants du COVID-19 se sont propagés à une vitesse inhabituelle, occupant presque toutes les régions du monde de manière terrible.

Depuis l'évolution rapide de cette pandémie, d'énormes progrès sont déployés par la communauté scientifique pour la connaissance approfondie de ce virus en termes de lutter contre sa diffusion et sa virulence.

Certaines études ont focalisé leur attention sur les facteurs de risque et les prédispositions génétiques comme les groupes sanguins, HLA et le système rénine angiotensine qui pourraient être la clé de cette variabilité de comportements de l'organisme vis-à-vis l'atteinte.

De notre part, notre étude qui comporte 20 cas covid 19 a montré une prédominance féminine dont la tranche d'âge la plus touchée (60%) est celle entre 35 et 50 ans.

Parmi les facteurs de risque étudiés, l'obésité semble avoir une association avec l'infection par la COVID-19 tandis que le tabagisme n'a présenté aucun impact.

Nous avons trouvé que les patients qui travaillent dans le secteur de la santé semblent être moins touchés par l'infection ; et 50% du mode de transmission de la maladie sont liés au lieu de travail.

En ce qui concerne les caractéristiques cliniques de notre population d'étude, on constate que la fatigue, les courbatures et la fièvre sont les symptômes les plus répandus avec 80%, 70% et 65% respectivement alors que seulement 20% des patients avaient un état de conscience agité ainsi 30% des sujets inclus ont été admis à l'hôpital. Dans la majorité des cas le diagnostic de la maladie de COVID-19 a été effectué par le test sérologique.

Notre travail a révélé que le taux d'infection est augmenté parmi les individus du groupe sanguin O et Rh positif, cependant on n'a pas noté dans notre échantillon de comorbidités des pathologies chroniques comme le diabète, HTA ....

Concernant l'étude génétique de polymorphisme *d'I/D ACE1* les résultats obtenus entre témoins (31) et malades (12) ont suggéré une association de l'allèle D avec l'infection par la Covid19 qui nous laisse à déduire que les porteurs de génotype DD sont plus prédisposés à être infecter. Cependant la taille de notre échantillon ne permet pas de tirer aucune constatation qui confirme cette liaison.

Dans l'avenir, et afin de valider ces résultats il serait mieux de mener des études approfondies impliquant de grande effectif de populations. D'autre part étudier autres facteurs de risque en relation étroite avec le virus (ECA2).

Les recherches ne cessent pas dans ce domaine car la pandémie de Covid-19 risque fort de n'être que la première d'une longue série. "Les pandémies futures seront plus fréquentes, se propageront plus vite, feront plus de mal à l'économie et tueront plus de personnes" si on ne fait rien.

# **Références**

# **Bibliographiques**

- **Ahmad Settin.**, rizkelba., Amr Abbas., aymanabd et all Journal of the reninangiotensinaldosterone System (Including other Peptidergic systems) June 2009 Volume 10 Number 2
- **Annoni, F.**, Orbegozo, D., Rahmania, L., et al., 2019. Angiotensin-converting enzymes in acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med.* 45, 1159–1160
- **Backer.**, Klinkenberg D., Wallinga J. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-ncov) infections among travellers from Wuhan, China, 20-28 January 2020. *Euro Surveill.* 2020 ;25(5).
- **Bao, L.**, Deng, W., Huang, B., et al., 2020. The pathogenicity of SARS-cov-2 in hacc2 transgenic mice. *Nature Online* ahead of print.
- **Batzer MA**, Stoneking M, Alegria-Hartman M, et al. African origin of human-specific polymorphic Alu insertions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994 Dec 6; 91 (25): 12288-92
- **Bloem LJ**, Manatunga AK, Pratt JH. Racial difference in the relationship of an angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism to serum angiotensin I-converting enzyme activity. *Hypertension* 1996 Jan; 27 (1): 62-6
- **Bonow, R.O.**, Fonarow, G.C., O’Gara, P.T., Yancy, C.W., 2020. Association of coronavirus disease 2019 (COVID-19) with myocardial injury and mortality. *JAMA Cardiol* Online ahead of print
- **Bornstein SR**, Rubino F, Khunti K, Mingrone G, Hopkins D, Birkenfeld AL, et al. Practical recommendations for the management of diabetes in patients with COVID-19. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2020;8 (6) :546- 550
- **Brice EA**, Friedlander W, Bateman ED, et al. Serum angiotensin-converting enzyme activity, concentration, and specific activity in granulomatous interstitial lung disease, tuberculosis, and COPD. *Chest* 1995 Mar; 107 (3): 706-10
- **Buchan SA**, Tibebe S, Daneman N, et al. Increased household secondary attack rates with Variant of Concern SARS-cov-2 index cases. *Clinical Infectious Diseases.* 2021;(ciab496).
- **Cambien , F.**, Soubrier, F., 1995, The angiotensin-converting enzyme: molecular biology and implication of the gene polymorphism in cardiovascular diseases. *Hypertension : Pathophysiology , Dignosis, and Management, Second Edition.*

- **Cao, Y., Li, L., Feng, Z., et al., 2020.** Comparative genetic analysis of the novel coronavirus (2019-ncov/SARS-cov-2) receptor ACE2 in different populations. *Celldiscov.* 6, e11
- **Chan JF,** et autres caractérisation génomique du nouveau coronavirus humano-pathogène 2019 isolé d'un patient présentant la pneumonie atypique après avoir visité Wuhan. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9:221-236.
- **Chan JFW,** Yuan S, Kok KH, To KKW, Chu H, Yang J, et al. Un cluster familial de pneumonie associé au nouveau coronavirus 2019 indiquant une transmission de personne à personne: une étude d'un cluster familial. *Lancette.* 2020 ; 395: 514 - 23.
- **Cheng Y,** Cheng G, Chui CH, Lau FY, Chan KS, Margaret HL et al. ABO blood group and susceptibility to severe acute respiratory syndrome. *JAMA.* 2005 Mar 23; 293(12):1450- 1.
- **Cherian S,** Potdar V, Jadhav S, et al. Convergent evolution of SARS-cov-2 spike mutations, L452R, E484Q and P681R, in the second wave of COVID-19 in Maharashtra,India. *Biorxiv.* Published online January 1, 2021:2021.04.22.440932.
- **Cole J,** Ertoy D, Lin H, et al. Lack of angiotensin II-facilitated erythropoiesis causes anemia in angiotensin-converting enzyme-deficient mice. *J Clin Invest* 2000;106:1391-8.
- **Curran J,** Dol J, Boulos L, et al. Transmission characteristics of SARS-cov-2 variants of concern Rapid Scoping Review. *Medrxiv.* Published online January 1,2021:2021.04.23.21255515.
- **Delanghe , J.R.,** Speeckaert, M.M., De Buyzere, M.L., 2020. COVID-19 infections are also affected by human ACE1 D/I polymorphism. *Clin. Chem. Lab. Med.* 58, 1125–1126
- **Dhar S,** Ray S, Dutta A, Sengupta B, Chakrabarti S. Polymorphism of ACE gene as the genetic predisposition of coronary artery disease in Eastern India. *Indian Heart J.*2012 Nov; 64(6):576–81
- **Docherty AB,** Harrison EM, Green CA, et al. Features of 16, 749 hospitalized UK patients with COVID-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterization Protocol. 28 April 2020.

- **Dufour C**, Casane D, Denton D, et al. Human-chimpanzee DNA sequence variation in the four major genes of the renin angiotensin system. *Genomics* 2000 Oct 1; 69 (1): 14-26
- **Fadini GP**, Morieri ML, Longato E, Avogaro A. Prevalence and impact of diabetes among people infected with SARS-cov-2. *J Endocrinol Invest.* 2020;43 (6) :867-869.
- **Faure-Delanef L**, Baudin B, Beneteau-Burnat B, et al. Plasma concentration, kinetic constants, and gene polymorphism of angiotensin I-converting enzyme in centenarians. *Clinchem* 1998 Oct; 44 (10): 2083-7
- **Foy CA**, mccormack LJ, Knowler WC, et al. The angiotensin-I converting enzyme (ACE) gene I/D polymorphism and ACE levels in Pima Indians. *J Med Genet* 1996 Apr; 33 (4): 336-7
- **Funk T**, Pharris A, Spiteri G, et al. Characteristics of SARS-cov-2 variants of concern B.1.1.7, B.1.351 or P.1: data from seven EU/EEA countries, weeks 38/2020 to 10/2021. *Eurosurveillance.* 2021;26(16).
- **Gallais F**, Gantner P, Bruel T, et al. Anti-SARS-cov-2 Antibodies Persist for up to 13 Months and Reduce Risk of Reinfection. *Medrxiv.* Published online January 1, 2021:2021.05.07.21256823.
- **Guillon P**, Clément M, Sébille V, Rivain JR, Chou CF, Ruvoen-Clouet N et al. Inhibition of the interaction between the SARS-cov spike protein and its cellular receptor by anti-histoblood group antibodies. *Glycobiology.* 2008 Dec; 18(12):1085-93.
- **Guo**, T., Fan, Y., Chen, M., et al., 2020. Cardiovascular implications of fatal outcomes of patients with coronavirus disease 2019 (COVID- 19). *jamacardiolepub* ahead of press.
- **Hatami** , N., Ahi, S., Sadeghinikoo, A., et al., 2020. Worldwide ACE (I/D) polymorphism may affect COVID-19 recovery rate: an ecological meta-regression. *Endocrine.* <https://doi.org/10.1007/s12020-020-02381-7>
- **Huang C**, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y et al. Caractéristiques cliniques des patients infectés par le nouveau coronavirus 2019 à Wuhan, en Chine. *Lancette.* 2020; 395:497-506.

- **Iacobellis G.** COVID-19 and diabetes: can DPP4 inhibition play a role? *Diabetes Res Clin Pract* 2020; 162: 108125
- **Imai, Y., Kuba, K., Rao, S., Huan, Y., et al., 2005.** Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature* 436, 112–116
- **Ingraham NE,** Barakat AG, Reilkoff R, et al. Understanding the renin-angiotensin-aldosterone-SARS-cov-axis: a comprehensive review. *Eurresp J.* 2000912.
- **Jeunemaitre X,** Soubrier F, Koteletsev Y, et al. Molecular basis of essential hypertension: role of angiotensinogen. *Cell* 1992;71:169-80.
- **Jia H.P,** Look D.C., Shi L. ACE2 receptor expression and severe acute respiratory syndrome coronavirus infection depend on differentiation of human airway epithelia. *J Virol.*2005;79(23):14614–14621.
- **Juan Gómeza ,h ,l,** Guillermo M.et all , 2020 , Angiotensin-converting enzymes (ACE, ACE2) gene variants and COVID-19 outcome , journal homepage: [www.elsevier.com/locate/gene](http://www.elsevier.com/locate/gene)
- **Kang ,** Si-Hyuck, Dong-Hoon Lee, Kyung-Do Han, Jin-Hyung Jung, Sang-Hyun Park, Andrew M. Dai, Henry G. Wei, et al. 2021. « Hypertension, renin-angiotensin-aldosterone-system-blocking agents, and COVID-19 ». *Clinical Hypertension* 27 (1): 11. <https://doi.org/10.1186/s40885-021-00168-0>.
- **Lai CC,** Liu YH, Wang CY, Wang YH, Hsueh SC, Yen MY, et al. État de porteur asymptomatique, maladie respiratoire aiguë et pneumonie due au coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-cov-2): faits et mythes. *J Microbiol Immunol Infect.* 2020; 53: 404 - 12.
- **Lam TT** et coll. Identification des coronavirus liés au SRAS-cov-2 chez les pangolins malais. *Nature.* 2020; 583 : 282-285. Doi: 10.1038 / s41586-020-2169-0.
- **Langford, K. G., Shai, S. Y., Howard, T. E., Kovac, M. J.,Overbeek, P. A., & Bernstein, K. E. (1991).** Transgenicmice demonstrate a testis-specific promoter for angiotensin converting enzyme. *Journal of Biological Chemistry,* 266(24),15559–15562.
- **Lannoy LM,** Danser AH, van Kats JP, et al. Renin-angiotensin system components in the interstitial fluid of the isolated perfused rat heart.Local production of angiotensin I. *Hypertension* 1997; 29: 1240-51.

- **Li R**, Ma X, Deng J, et al. Differential efficiencies to neutralize the novel mutants B.1.1.7 and 501Y.V2 by collected sera from convalescent COVID-19 patients and RBD nanoparticle-vaccinated rhesus macaques. *Cell Mol Immunol*. Published online February 2021.
- **Liu P**, Chen W, Chen JP. La métagénomique virale a révélé une infection par le virus Sendai et le coronavirus des pangolins malais (*Manis javanica*). 2019; 11 : 979.
- **Lu R** et coll. Caractérisation génomique et épidémiologie du nouveau coronavirus 2019: implications pour les origines du virus et la liaison aux récepteurs. *Lancette*. 2020; 395 : 565574.
- **Lu**, N., Yang, Y., Wang, Y., et al., 2012. ACE2 gene polymorphism and essential hypertension: an updated meta-analysis involving 11,051 subjects. *Mol. Biol. Rep.* 39,6581–6589
- **Luo**, Y., Liu, C., Guan, T., et al., 2019. Association of ACE2 genetic polymorphisms with hypertension-related target organ damages in south Xinjiang. *Hypertens. Res.* 42,681–689
- **Marre M**, Hadjadj S, Bouhanick B. Hereditary factors in the development of diabetic renal disease. *Diabetes Metab* 2000;26(Suppl 4):30-6.
- **Marshall**, R.P., Webb, S., Bellingan, G.J., et al., 2002. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism is associated with susceptibility and outcome in acute respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 166, 646–650.
- **Matsuda**, A., Kishi, T., Jacob, A., et al., 2012. Association between insertion/deletion polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene and acute lung injury/acute respiratory distress syndrome: a meta-analysis. *BMC Med. Genet.* 13 (76).
- **Mckenzie CA**, Julier C, Forrester T, et al. Segregation and linkage analysis of serum angiotensin I-converting enzyme levels: evidence for two quantitative-trait loci. *Am J Hum Genet* 1995 Dec; 57 (6): 1426-35
- **Mehri**, S., Boussaada, R., Mahjoub, S., Guemira, F., Vuillaumier-Barrot, S., Mechmeche, R., Durand, G., Ben Arab, S., 2005, Le polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et le risque de l'infarctus du myocarde en Tunisie. *Antropo*, 10, 75-81.
- **Morelle**, Johann, Arnaud Devresse, Nathalie Demoulin, Valentine Gillion, Eric Goffin, Nada Kanaan, Laura Labriola, et Michel Jadoul. S. D. « COVID-19, rein et maladies rénales », 4.

- **Naveca F**, Nascimento V, Souza V, et al. Phylogenetic relationship of SARS-cov-2 sequences from Amazonas with emerging Brazilian variants harboring mutations E484K and N501Y in the Spike protein. *Virological*. Published online 2021.
- **Nguyen A**, David JK, Maden SK, Wood MA, Weeder BR, Nellore A, et al. Human leukocyte antigen susceptibility map for SARS-cov-2. *J Virol*. 2020;JVI.00510-20, jvi;JVI.00510 20v1.
- **Nigel M**. Zinc metalloproteases in health and disease. Hooper ed. Taylor and Francis Ltd.1996; 84-88/91-95
- **Oudit**, G.Y., Kassiri, Z., Jiang, C., et al., 2009.SARS-coronavirus modulation of myocardial ACE2 expression and inflammation in patients with SARS. *Eur. J. Clin. Invest*.39, 618–625.
- **Pal R**, Bhansali A. COVID-19, Diabetes Mellitus and ACE2: The Conundrum. *Diabetes Res Clin Pract*. 2020;162:108132.
- **Patel**, V.B., Bodiga, S., Fan, D., Das, S.K., Wang, Z., Wang, W., Basu, R., Zhong, J., Kassiri, Z., Oudit, G.Y., 2012. Cardioprotective effects mediated by angiotensin II type 1 receptor blockade and enhancing angiotensin 1–7 in experimental heart failure in angiotensin-converting enzyme 2-null mice. *Hypertension* 59, 1195–1203
- **Pearson CA**, Eggo. Estimates of severity and transmissibility of novel South Africa SARS-cov-2 variant501y.V2.
- **Planas D**, Veyer D, Baidaliuk A, et al. Reduced Sensitivity of Infectious SARS-cov-2 Variant B.1.617.2 to Monoclonal Antibodies and Sera from Convalescent and Vaccinated Individuals. *Microbiology*; 2021. Doi:10.1101/2021.05.26.445838
- **Rieder MJ**, Taylor SL, Clark AG, et al. Sequence variation in the human angiotensin converting enzyme. *Nat Genet* 1999 May; 22 (1): 59-62
- **Rigat B**, Hubert C, Alhenc-Gelas F, et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme accounts for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343-6.
- **Rivieccio**, B.A., Luconi, E., Boracchi, P., et al., 2020. Heterogeneity of COVID-19 outbreak in Italy.*Acta Biomed*.91, 31–34.
- **S Maimaitiming1**, R Roussel2, F Fumeron1, K Mohammedi2, S Hadjadj3,R Aubert1, F Travert2, J Tichet4, B Balkau5, M Marre2 1 *Diabetes Metab* 2008, 34, A9-A42

- **S.R. Moreiraa**, O.T. Nóbrega b, H.A.P. Santanac,e, M.M. Sales c, P.T.V. Farinatti d, H.G. Simões c / *Rev Andal Med Deporte*. 2016;xxx(xx):xxx–xxx
- **Shi J** et coll. Sensibilité des furets, chats, chiens et autres animaux domestiques au SRAS-coronavirus 2. *Science*. 2020; 368 : 1016-1020. Doi: 10.1126 / science.abb7015.
- **Shi, S**, Qin, M., Shen, B., et al., 2020. Association of cardiac injury with mortality in hospitalized patients with COVID-19 in Wuhan, China. *jamacardiol Online ahead of print*.
- **Soubrier F**, Jeunemaitre X, Rigat B, et al. Similar frequencies of renin gene restriction fragment length polymorphism in hypertensives and normotensive subjects. *Hypertension* 1990;16:712-7.
- **Tang B**, Wang X, Li Q, Bragazzi NL, Tang S, Xiao Y, Wu J. Estimation of the Transmission Risk of the 2019-ncov and Its Implication for Public Health Interventions. *J Clin Med* 2020a;9 (2): E462.
- **Tegally H**, Wilkinson E, Giovanetti M, et al. Emergence of a SARS-cov-2 variant of concern with mutations in spike glycoprotein. *Nature*. Published online 2021. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03402-9>
- **Tiret L**, Rigat B, Visvikis S, et al. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet* 1992 Jul; 51 (1): 197-205
- **Tomita H**, Ina Y, Sugiura Y, et al. Polymorphism in the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene and sarcoidosis. *Am J respircrit Care Med* 1997 Jul; 156 (1): 2559
- **Van der Merwe, L.**, Cloete, R., Revera, M., et al., 2008. Genetic variation in angiotensin converting enzyme 2 gene is associated with extent of left ventricular hypertrophy in hypertrophic cardiomyopathy. *Hum. Genet.* 124, 57–61
- **Verity R.**, Okell L.C., Dorigatti I. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. *Ancet Infect Dis*. 2020;20:30243–30247. S14733099.
- **Wang C**, Horby PW, Hayden FG, Gao GF. Une nouvelle épidémie de coronavirus préoccupante pour la santé mondiale. *Lancette*. 2020; 395: 470 - 3.
- **Wibmer CK**, Ayres F, Hermanus T, et al. SARS-cov-2 501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma. *Nat Med*. Published online March 2021.

- **Wu Z**, mcgoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA* 2020; 323:1239–1242.
- Xia S, Zhu Y., Liu M. *Cell Mol Immunol*; 2020. Fusion mechanism of 2019ncov and fusion inhibitors targeting HR1 domain in spike protein; pp. 1–3.
- **Xie, X.**, Chen, J., Wang, X., Zhang, F., Liu, Y., 2006. Age- and gender-related difference of ACE2 expression in rat lung. *Life Sci.* 78, 2166–2171
- **Xile Zhou** and Caizhao Lin *World Journal of Surgical Oncology* (2015) 13:27
- **Yamamoto, N.**, Ariumi, Y., Nishida, N., Yamamoto, R., Bauer, G., Gojobori, T., Shimotohno, K., Mizokami, M., 2020 Jul. SARS-cov-2 infections and COVID-19 mortalities strongly correlate with ACE1 I/D genotype. *Gene* 3, 144944.
- Yu F., Du L., Ojcius D.M. Measures for diagnosing and treating infections by a novel coronavirus responsible for a pneumonia outbreak originating in Wuhan, China. *Microbes Infect.* 2020;22(2):74–79.
- **Yuki, Koichi, Miho Fujiogi, et Sophia Koutsogiannaki.** 2020. « COVID-19 pathophysiology: A review ». *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)* 215 (juin): 108427.
- **Zhang, Q.**, Cong, M., Wang, N., et al., 2018. Association of angiotensin-converting enzyme 2 gene polymorphism and enzymatic activity with essential hypertension in different gender: a case–control study. *Medicine (Baltimore)* 97, e12917
- **Zhao J**, Yang Y, Huang H, Li D, Gu D, Lu X et al. Relationship between the ABO Blood Group and the COVID-19 Susceptibility. *Epidemiology*; 16 mars 2020
- **Zhou P.** Et coll. Une épidémie de pneumonie associée à un nouveau coronavirus d'origine probable de chauve-souris. *Nature.* 2020; 579 : 270-273.
- **Zhou, F**, Yu, T., Du, R., et al., 2020. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 395,1054–1062.
- **Zhu N**, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. Un nouveau coronavirus de patients atteints de pneumonie en Chine, 2019. *N Engl J Med.* 2020; 382: 727 - 33.

### Web Graphie

- CDC COVID-19 Response Team. Preliminary estimates of the prevalence of selected underlying health conditions among patients with coronavirus disease 2019 – United States, February 12-March 28, 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2020; 69:382–386
- [https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/991343/Variants\\_of\\_Concern\\_VOC\\_Technical\\_Briefing\\_14.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/991343/Variants_of_Concern_VOC_Technical_Briefing_14.pdf)
- <https://medicalforum.ch/fr/detail/doi/fms.2021.08713>.
- [https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/20210622\\_Weekly\\_Epi\\_Update\\_45](https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/20210622_Weekly_Epi_Update_45)
- <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-maladies/2619471-grippe-ou-covid-19-coronavirus-differences-symptomes-incubation-transmission-vaccin/>
- <https://www.england.nhs.uk/publication/type-1-and-type-2-diabetes-and-covid-19-related-mortality-in-england/>. Accessed 26 June 2020
- <https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/coronavirus-coronavirus-age-augmente-t-il-risque-etre-infecte-83581/>.
- <https://www.futura-sciences.com/sante/actualites/coronavirus-formes-graves-covid-19-15-expliquent-ces-deux-anomalies-83198/>.
- <https://www.la-croix.com/Sciences-et-ethique/Sante/Coronavirus-piste-predisposition-genetique-2020-04-22-1201090634>.
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7929788/>
- <https://www.pharmacorama.com/pharmacologie/mediateurs/medicaments-impact-peptides-vaso-actifs/angiotensine/>
- <https://www.topsante.com/medecine/maladies-infectieuses/zoonoses/covid-19-obesite-facteur-risque-636065>.
- <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-detail/coronavirus-disease-covid-19>
- Pneumonie de cause inconnue - Chine: nouvelles sur les flambées de maladie. Genève: Organisation mondiale de la Santé, 5 janvier 2020 ( <https://www.who.int/csr/don/05-january-2020-pneumonia-of-unknown-cause-china/en/>. ouvre dans un nouvel onglet).
- Résumé des cas probables de SRAS avec apparition de la maladie du 1er novembre 2002 au 31 juillet 2003. Genève: Organisation mondiale de la Santé, 2004 ([https://www.who.int/csr/sars/country/table2004\\_04\\_21/en/](https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/). ouvre dans un nouvel onglet).
- Transmission de la COVID-19 | APSAM

# **Annexes**

## Annexe 1

## FICHE DE RECUEIL D'INFORMATION : Covid-19

Nom.....  
 Prénom.....  
 Sexe .....

Date de naissance .....

Adresse.....  
 .....

Tel .....

Activité ou profession  
 .....

Situation civile : célibataire  marié(e)  divorcé(e)

Nombre d'enfants : .....

Poids ..... taille.....

**Symptômes :**

1. Début des symptômes  
 .....

Fièvre  Toux  Fatigue  Difficultés respiratoires   
 Courbatures  Mal à la gorge   
 Perte du gout  de l'odorat  Diarrhée  
 Autres  
 .....

2. Avez-vous un traitement en cours ? Corticoïdes  biothérapie  chimiothérapie   
 Autre.....

3. Avez-vous pris des Anti-inflammatoires non stéroïdiens si oui nom  
 du médicament ..... Quand.

4. Combien de temps ont duré vos symptômes ? ..... Je ne  
 sais pas

5. Quand avez-vous eu ces symptômes ou signes de la maladie ? (préciser la date si  
 possible)

6. Avez-vous consulté un médecin  ou été hospitalisé  suite à ces symptômes  
 ou signes de la maladie.

**Examens et analyses :**

1. Vous a-t-on fait un test pour savoir si c'était le Coronavirus (COVID-19) ?

2. Quel était ce test :

- test sérologique (immunologique) Quel a été le résultat de ce test ? (+)  ou (-)   
 .....IgG.....

.....IgM.....

- test RT –PCR Quel a été le résultat de ce test ? + ou

Groupe sanguin : .....SpO2 .....

TA ...../..... FNS ..... VS : 1h .....2h .....CRP.....

État de conscience : normal  agité  confusion  Résultats du scanner et pourcentage de l'atteinte pulmonaire

.....

**Données cliniques :**

Tabac	Non fumeur <input type="checkbox"/> Fumeur <input type="checkbox"/> Ex fumeur <input type="checkbox"/> Si arrêté depuis.....
Personnes âgées de 70 ans et plus	
Antécédents cardiovasculaires	Hypertension artérielle compliquée <input type="checkbox"/> Antécédents d'AVC <input type="checkbox"/> Antécédents de coronaropathie <input type="checkbox"/> Chirurgie cardiaque <input type="checkbox"/> Insuffisance cardiaque <input type="checkbox"/>
Diabète sucré	
Pathologie respiratoire chronique et/ou allergie	
Pathologie cancéreuse	
Pathologie thyroïdienne	
Pathologie psychiatrique	
Pathologie neurologique	
Autres (ostéoporose et insuffisance rénale chronique)	

**Éléments épidémiologiques :**

1. Avez-vous voyagé récemment à l'intérieur du pays
2. Si oui préciser la ville : .....
3. Avez-vous été en contact avec une personne qui est rentrée au cours des 14 derniers jours de l'étranger
4. Avez-vous été en contact avec une personne qui a récemment voyagé en Algérie  Si oui préciser la zone .. ..
5. Y a-t-il une personne de votre entourage ou avez-vous été en contact chez qui le diagnostic de COVID-19 a été établi
6. Prenez-vous des mesures de précaution pour éviter d'attraper le Coronavirus (COVID-19) ? oui (bavette ,gel hydro alcoolique et distanciation) non
7. Pensez vous que vous avez été contaminé suite à l'une de ces situations dont le virus a été transmis :
  - par des personnes de votre entourage qui ont des symptômes comme de la fièvre et de la toux .
  - par des personnes qui n'ont pas de symptômes
  - par survie sur des surfaces inertes comme les poignées de porte ou les barres dans les transports en commun
  - dans l'air ambiant
  - lors d'une réunion
  - lors d'un repas de famille ou entre collègues  . - au sein de votre famille
  - en allant faire des courses au magasin d'alimentation  .
  - en prenant les transports en commun

**Annexe 2****L'extraction de L'ADN génomique à partir du sang humain et PCR**

Une étape importante qui précède la procédure de l'extraction de de l'ADN est d'avoir le matériel biologique par prélèvement sanguin.

**➤ Mode de prélèvement**

Le prélèvement du sang se réalise au niveau du pli du coude après la pose d'un garrot. Ce prélèvement sanguin est recueilli stérilement dans un tube de type Vacutainer à EDTA (anticoagulant et un inhibiteur des nucléases) en quantité de 6 à 10 ml.

**➤ Conservation**

L'extraction de l'ADN est réalisée normalement sur du sang frais. Il arrive dans certains cas de non possibilité technique, que l'échantillon sanguin soit stocké pendant une semaine à +4°C.

## I- Étapes de l'extraction et la purification de l'ADN

### 1- Préparation des leucocytes

- Dans un tube Falcon de 50 ml ; mettre le sang total (7-10 ml) et compléter à 45 ml avec du TE 20 :5. Laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm).
- Déverser le surnageant prudemment afin de garder le culot leucocytaire précipité au fond de tube.
- Rajouter le TE 20: 5 au culot jusqu'à 25-30 ml , agiter pour le remettre en suspension et laisser 10 min dans la glace.
- Centrifuger 15 min à 3900 g (3900 rpm).
- Déverser le surnageant : **obtention d'un culot de leucocytes.**

**Remarque** : Si on s'arrête à ce niveau, les mettre dans un tube nunc de 1.5 ml avec du TE 10 :1 et les conserver à -20°C dans un congélateur.

### 2- Extraction de l'ADN

- Décongeler les leucocytes et les centrifuger pendant 15 min à 3900 rpm si on les a gardé préalablement.
- Après **obtention d'un culot de leucocytes** : Dilacérer le culot de leucocytes soigneusement afin de les prendre complètement et les mettre dans un tube Falcon conique de 15 ml.
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse (NaCl 400 mM, EDTA 2mM, Tris 10mM, PH 8.2).
- Ajouter 200 µL de SDS à 10% (100 g SDS + 1000 ml H<sub>2</sub>O)
- Ajouter 100 µL de protéinase K à 10 mg / ml.
- Dans l'étuve, Agiter le tube sur une roue rotative à 37°C pendant une nuit.
- Le lendemain ; refroidir dans la glace.
- Ajouter 1 ml de NaCl 4 M et agiter rigoureusement à la main.
- Remettre 5 min dans la glace (précipitation des protéines).
- Centrifuger 15 min à 2500 rpm.
- Transvaser le surnageant dans un tube Falcon de 50 ml , ajouter 2 fois son volume d'éthanol absolu (100%) préalablement refroidi et agiter en tournant le tube

plusieurs fois : **la formation de la méduse** visible à l'œil nu . (laisser éventuellement 30 min à  $-20^{\circ}\text{C}$  si la pelote d'ADN ne se forme pas).

- Récupérer la pelote d'ADN par une pipette pasteur et la rincer 2 fois dans l'éthanol à 70% dans un tube nunc (ependorf) stérile.

### **3-Solubilisation de l'ADN :**

- L'ADN est réhydraté en ajoutant entre 300 et 1000  $\mu\text{L}$  de TE 10:1 selon la grosseur de la pelote et la concentration souhaitée.
- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à  $37^{\circ}\text{C}$ , puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète ( de 1 jusqu'à 3 jour).

### **4- Evaluation de la pureté et quantification de la concentration d'ADN**

La pureté de l'ADN et sa concentration sont estimées par spectrophotométrie à UV.

La pureté de l'ADN est déterminée par le rapport de  $\text{DO}_{260\text{nm}} / \text{DO}_{280\text{nm}}$ . La densité optique ou DO à 260 nm des solutions diluées au 1/100 est utilisée également pour le dosage de l'ADN, ce qui permet de calculer sa concentration, sachant que 1 unité DO correspond à 50 mg/ml d'ADN.

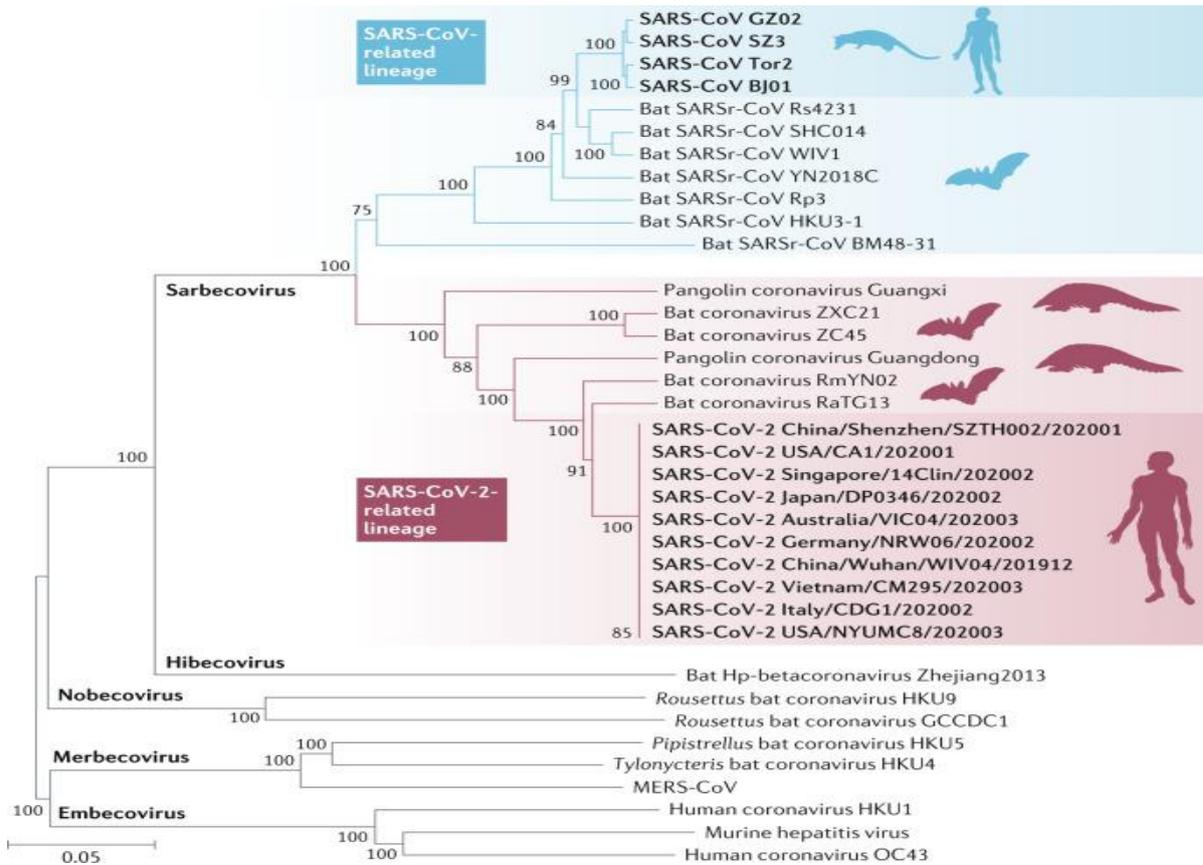
La pureté de l'ADN est essentielle. Dans le cas où l'ADN est contaminé (*par des protéines ou de l'ARN*) , ce dernier ne laisserait pas aboutir à un bon résultat dans les étapes suivantes de son analyse par PCR.

La qualité de l'ADN peut être vérifiée par un contrôle de taille des molécules d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose 0,8% soumis sous tension d'un courant électrique de 100 volt pendant 2h.

## **Annexe 3**

Le vaccin Pfizer/BioNtech Comirnaty a été inscrit sur la liste des utilisations d'urgence de l'OMS (EUL) le 31 décembre 2020. Les vaccins SII/Covishield et AstraZeneca/AZD1222 (développés par AstraZeneca/Oxford et fabriqués respectivement par l'Institut d'État de l'Inde et SK Bio) ont reçu l'EUL le 16 février. Le Janssen/Ad26.COV 2.S développé par Johnson & Johnson, a été coté pour EUL le 12 mars 2021. Le vaccin Moderna COVID-19 (ARNm 1273) a été inscrit à l'EUL le 30 avril 2021 et le vaccin CoVID-19 de Sinopharm a été inscrit sur la liste EUL le 7 mai 2021. Le vaccin Sinopharm est produit par Beijing Institute of Biological Products Co Ltd, filiale de China National Biotec Group (CNBG).

Annexe 4



Arbre phylogénétique des séquences génomiques complètes du SRAS-CoV-2, du SARSr-CoV et d'autres bêtacoronavirus.

Annexe 5

Comparaison de certains vaccins anti-Covid-19

Société	Modèle	Doses	Quelle efficacité*	Conservation	Coût par dose
Oxford Uni-AstraZeneca	Vecteur viral (virus génétiquement modifié)	x2	62-90%	Température normale du réfrigérateur	2 167 FCFA (\$4)
Moderna	ARN (partie du code génétique du virus)	x2	95%	-20C jusqu'à 6 mois	18 052 FCFA (\$33)
Pfizer-BioNTech	ARN	x2	95%	-70C	10 835 FCFA (\$20)
Gamaleya (Sputnik V)	Vecteur viral	x2	92%	Température normale du réfrigérateur (sous forme sèche)	5 416 FCFA (\$10)

\*résultats préliminaires en phase III, non encore validés

Source : Entreprises respectives, OMS



### Résumé

La maladie COVID-19 est caractérisée par la grande variabilité d'un malade à un autre. Cette variabilité est liée à certains facteurs et prédispositions génétiques.

Le système angiotensine semble être impliqué dans la pathogenèse de la COVID-19. L'ECA2 étant le récepteur cellulaire du SRAS-CoV-2, son expression pourrait réguler la susceptibilité de l'individu à l'infection. Alor que l'équilibre entre l'activité de l'ECA1 et L'ECA2 a été impliqué dans la pathogenèse des maladies respiratoires et cardiovasculaires et pourrait jouer un rôle dans leur gravité. Le polymorphismes I/D fonctionnel du gène ECA1 semble donc contribuer à l'issue de la COVID-19.

Nos Objectifs sont focalisés à déterminer les fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme du gène de l'ECA1 dans Les deux population infectée (covid-19, témoin), afin d'évaluer s'il existe une association entre ce polymorphismes I/D et Covid-19. Patients et méthodes : Notre étude a porté sur 20 patients et 31 témoins suite a un questionnaire comporte tous les renseignements cliniques et épidémiologiques. La recherche du polymorphisme I/D du gène de l'ECA a été réalisé par PCR.

Résultats et discussion : Notre étude a révélé une prédominance féminine l'obésité et le groupe Sanguin o+ sont corrélés au tour de l'infection dont la fatigue et la fièvre sont les majeurs symptômes.

Le polymorphisme *D* du gène *ECA1* semble être liée a la susceptibilité de l'infection Cependant la taille de notre échantillon ne permet pas de tirer de conclusion il devrait élargir l'effectif de la recherche et étudier d'autre facteur de risque

Mot clés : Gène *ACE*, enzyme *ECA*, polymorphisme *D*, COVID-19

## Abstract

COVID-19 is characterised by high variability from patient to patient. This variability is related to certain genetic factors and predispositions.

The angiotensin system appears to be involved in the pathogenesis of COVID-19. Since ACE2 is the cellular receptor for SARS-CoV-2, its expression may regulate the individual's susceptibility to infection. While the balance between ACE1 and ACE2 activity has been implicated in the pathogenesis of respiratory and cardiovascular diseases and may play a role in their severity. Functional I/D polymorphisms in the ACE1 gene therefore appear to contribute to the outcome of COVID-19.

Our objectives are to determine the allelic and genotypic frequencies of the ACE1 gene polymorphism in the two infected populations (covid-19, control), in order to assess whether there is an association between this I/D polymorphism and Covid-19.

Patients and methods: Our study included 20 patients and 31 controls following a questionnaire with all clinical and epidemiological information. The search for the I/D polymorphism of the ACE gene was performed by PCR.

Results and discussion: Our study revealed a female predominance, obesity and the o+ blood group are correlated with the course of the infection, of which fatigue and fever are the major symptoms.

The D polymorphism of the ACE1 gene seems to be related to the susceptibility of the infection. However, the size of our sample does not allow us to draw any conclusion and we should enlarge the research and study other risk factors.

Key words: ACE gene, ACE enzyme, D polymorphism, COVID-19

## ملخص

يتميز مرض كوفيد-19 بتنوع كبير من مريض لآخر. يرتبط هذا التباين ببعض العوامل الوراثية والميول.

يبدو أن نظام الأنجيوتنسين متورط في التسبب في مرض كوفيد-19. نظرًا لأن ACE2 هو المستقبل الخلوي لـ SARS-CoV-2 ، فقد ينظم تعبيره قابلية الفرد للإصابة. لذلك ، فإن التوازن بين نشاط ACE1 و ACE2 له دور في التسبب في أمراض الجهاز التنفسي والقلب والأوعية الدموية وقد يلعب دورًا في شدتها. يبدو أن تعدد الأشكال الوظيفية I / D لجين ECA1 يساهم في نتيجة COVID-19

تركز أهدافنا على تحديد الأليل والترددات الوراثية لتعدد الأشكال الجيني ACE1 في المجموعتين المصابتين-covid) 19 ، التحكم (، من أجل تقييم ما إذا كان هناك ارتباط بين تعدد الأشكال I / D و Covid-19

المرضى والطرق: تضمنت دراستنا 20 مريضًا و 31 عنصر تحكم بعد استبيان يشتمل على جميع المعلومات السريرية والوبائية. تم إجراء البحث عن تعدد الأشكال I / D لجين ACE بواسطة

PCR. النتائج والمناقشة: كشفت دراستنا غلبة السمنة عند الإناث وترتبط فصيلة الدم + o بالعدوى ، ومن أهم أعراضها التعب والحمى. يبدو أن تعدد الأشكال D لجين ECA1 مرتبط بقابلية الإصابة بالعدوى ، ومع ذلك ، فإن حجم العينة لدينا لا يسمح باستخلاص نتيجة ؛ يجب أن يزيد عدد موظفي البحث ودراسة عوامل الخطر الأخرى

الكلمات المفتاحية: جين ACE ، إنزيم ECA ، تعدد الأشكال D ، COVID-19

Année universitaire : 2020-2021

Présenté par : MAIZOU Aymen / CHOUGUI Ramzi

## Etude de l'association de facteurs de risque et de polymorphismes I/D de L'ECA et la COVID-19

### Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génétique

La maladie COVID-19 est caractérisée par la grande variabilité d'un malade à un autre. Cette variabilité est liée à certains facteurs et prédispositions génétiques.

Le système angiotensine semble être impliqué dans la pathogenèse de la COVID-19. L'ECA2 étant le récepteur cellulaire du SRAS-CoV-2, son expression pourrait réguler la susceptibilité de l'individu à l'infection. Alor que l'équilibre entre l'activité de l'ECA1 et L'ECA2 a été impliqué dans la pathogenèse des maladies respiratoires et cardiovasculaires et pourrait jouer un rôle dans leur gravité.

Le polymorphismes I/D fonctionnel du gène ECA1 semble donc contribuer à l'issue de la COVID-19. Nos Objectifs sont focalisés à déterminer les fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme du gène de l'ECA1 dans Les deux population infectée (covid-19, témoin), afin d'évaluer s'il existe une association entre ce polymorphismes I/D et Covid-19.

**Patients et méthodes :** Notre étude a porté sur 20 patients et 31 témoins suite a un questionnaire comporte tous les renseignements cliniques et épidémiologiques. La recherche du polymorphisme I/D du gène de l'ECA a été réalisé par PCR.

**Résultats et discussion :** Notre étude a révélé une prédominance féminine l'obésité et le groupe Sanguin o+ sont corrélés au tour de l'infection dont la fatigue et la fièvre sont les majeurs symptômes.

Le polymorphisme *D* du gène *ECA1* semble être liée a la susceptibilité de l'infection Cependant la taille de notre échantillon ne permet pas de tirer de conclusion il devrait élargir l'effectif de la recherche et étudier d'autre facteur de risque

**Mot clés :** Gène *ACE*, enzyme *ECA*, polymorphisme *D*, COVID-19

**Mots clés:** Gène *ACE*, enzyme ACE , polymorphisme ID , COVID-19

#### Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Biologie Moléculaire, Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Laboratoire de Biologie moléculaire et cellulaire, Université Frères Mentouri, Constantine 1.

**Président du jury :** BENHIZIA Hayet (Maître de conférences A - UFMC1).

**Encadreur :** ZIADA- BOUCHAAR Hadia (Maître de conférences B - UFMC1).

**Examineur :** GHARZOULI Razika (Maître de conférences A - UFMC1)