

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR**  
**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



**Université des frères Mentouri Constantine 1**  
**Faculté des Science de la Nature et de la Vie**  
**Département : Biologie appliquée**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**  
**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Spécialité : Bioinformatique**



**Intitulé**

**Etude sur les variants du Sars-CoV-2**



**Présenté par :**  
**BENMANSEUR Louay sif eddine**  
**BRIHI Sofiane**

**Le : 30/09/2021 à Constantine**

**Jury d'évaluation :**

Président ;	Mr Chehili Hamza	<i>MCB UFMC</i>
Encadreur :	Mr Temagoult Mahmoud	<i>MAA UFMC 1</i>
Examineur :	Kellou Kamel	<i>MAA UFMC 1</i>

**Année universitaire**  
**2020/2021**



# Table de matières

Remerciement .....	
Liste des abréviations.....	
Liste des figures .....	
Liste des tableaux .....	
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre 1 : Coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2)</b>	
1. Présentation générale : .....	3
2. Historique : .....	3
3. Génomique, phylogénie et taxonomie : .....	4
4. Hôte animal et débordement : .....	8
5. Utilisation des récepteurs et pathogénèse : .....	9
6. Diagnostique : .....	13
<b>Chapitre 2 : les variantes du SARS-cov-2</b>	
1 Mutation : .....	1
1.1 Définition : .....	5
1.2 Types de mutations : .....	1
1.2.1 Les mutations par substitution : .....	5
1.2.1.1 Mutation faux-sens : .....	1
1.2.1.2 Mutation non-sens ; .....	5
1.2.1.3 Mutation silencieuse : .....	1
1.2.2 Les mutations décalantes : .....	5
1.2.2.1 Insertion : .....	1
1.2.2.2 Délétion ; .....	5
1.2.2.3 Mutation par duplication : .....	1
1.3 les mutations du Sars-CoV-2 : .....	5
2. Classification des variantes : .....	1
	5
	1
	6
	1
	6
	1
	6

	1
	6
	1
	7
2.1 Variant d'interet : .....	1
	7
2.2 Variante préoccupante :.....	1
	8
2.3 Variante de conséquence élevée : .....	1
	9
3 génomique et protéomique des mutations survenantes dans le SARS-CoV-2 :.....	2
	0
3.1 Détection de variantes de nucléotides et d'acides aminés : .....	2
	0
3.2 Les arbres phylogénétiques : .....	2
	1
3.3 L'analyse des données : .....	2
	1
3.3.1 Les analyses phylogénétiques basées sur les nucléotides et les acides aminés du SRAS-CoV-2 :.....	2
	2
3.3.2 La proportion de transitions, de transversion et d'indels ...	2
	3
3.3.3 La substitution D614G dans la glycoprotéine : .....	2
	5
3.3.4 Conservation des ORF7b et ORF8 .....	2
	6
3.3.5 Mutation de phosphoprotéine nucléocapside (N) :.....	2
	7
<b>Chapitre 3 : les vaccins développés</b>	
Généralités :	2
	9
4 Techniques de vaccins .....	2
	9
3.1 Vaccin à virus entier : .....	2
	9
3.2 Vaccin à vecteur viral : .....	3
	0
3.3 vaccin à base d'acides nucléiques : .....	3
	2
3.4 Vaccins à base de protéines (sous-unité) : .....	3
	3

<b>3.5</b>	Progrès antérieurs du SARS-CoV et du MERS-CoV stratégies de vaccination : .....	3 4
	<b>Conclusion</b> .....	3 5
	<b>Références</b> .....	3 6
	<b>Résumé</b> .....	4 2

## **Remerciement :**

*A la fin de ce mémoire, nous sommes heureux de pouvoir remercier toutes les personnes qui nous ont accompagnés et soutenus tout au long de ce travail. Nous voudrions tout d'abord remercier "Allah" pour nous avoir donné la force, la patience et le courage d'amener ce travail à terme*

*Nous voudrions surtout exprimer notre sincère gratitude à notre encadreur , **Dr Temagoult**, pour sa présence, sa disponibilité, ses réflexions pertinentes, ses orientations, ses précieux conseils, sa patience et son implication et pour son aide dans la rédaction de ce mémoire.*

*Nos remerciements vont également aux membres du jury ainsi qu'au Pr Chehili Hamza A et à M. Kellou K pour l'intérêt qu'ils portent à notre recherche en acceptant d'évaluer notre mémoire de fin d'études et de l'enrichir de leur contribution.*

*A nos familles et nos amis qui par leurs prières et leurs encouragements, on a pu surmonter tous les obstacles.*

*Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années des études.*

*Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## Liste des abréviations

ACE2 :L'enzyme de conversion de l'angiotensine 2

COG-UK : Consortium britannique de génomique

GISAID : Initiative mondiale sur le partage des données sur la grippe aviaire

GVEG : Groupe environnemental de la vallée de Goulburn

KRISP : Suppression du bruit et suppression de l'écho

MAFFT : Alignement multiple à l'aide de la transformée de Fourier rapide

NERVTAG : consultatif sur les menaces de virus respiratoires nouveaux et émergents

NGS-SA : Réseau de surveillance génomique en Afrique du Sud

Nsps : Société nationale des géomètres professionnels

OMS : organisation mondiale de santé

ORF : Cadre de lecture ouvert

OPS : Organisation panaméricaine de la santé

RdRp : polymérase ARN ARN-dépendante

SDRA : *syndrome de détresse respiratoire aiguë*

SIG : système d'information géographique

TMPRSS2 : La protéase transmembranaire à sérine 2

## Liste des figures :

N°	Titre	Page
1	La structure du génome et du virion des coronavirus	04
2	Arbre phylogénétique des séquences complètes du génome du SARS-CoV-2	06
3	Diagramme schématique de la protéine de pointe (S) du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) et du SARS-CoV-2	08
4	Alignement du domaine de liaison au récepteur (RBD) dans le SARS-CoV-2, le SARS-CoV BJ01, le RaTG13	10
5	Les symptômes typiques de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19)	12
6	Une représentation de la protéine SARS CoV-2 S et de la variation D/G au résidu 614	25
7	Développement d'un vaccin COVID-19 par rapport au développement d'un vaccin conventionnel (Dudzile Ndwandwe <i>et al.</i> ,2021)	29
8	Etapas de développement du vaccin BBIBP-CorV (Hui Wang <i>et al.</i> ,2020)	31



## Liste des tableaux :

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
1	Résumé de quelques mutations de nucléotides et d'acides aminés détectées dans le SRAS-CoV-2	23
2	Avantages et inconvénients des différentes plateformes vaccinales	34

# **Introduction**



## **Introduction**

En décembre 2019, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a été informée du cas de pneumonie de cause inconnue, détecté sur le marché des fruits de mer de la ville de Wuhan dans la province du Hubei, en Chine.

La cause a été identifiée comme un nouveau coronavirus (n-CoV) sur la base des résultats de laboratoire en référence au syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS) et au coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS).

En peu de temps, il est devenu un phénomène mondial depuis le cas d'une seule pneumonie à Wuhan. Plus tard, le 30 janvier 2020, l'OMS a déclaré l'épidémie de 2019-nCoV une urgence de santé publique préoccupante pour la santé mondiale, soulignant la nécessité d'une action mondiale, d'une coopération et d'une solidarité internationales et d'une collaboration pour contrôler l'épidémie.

Le 11 février 2020, l'OMS a annoncé un nom pour la nouvelle maladie à coronavirus : COVID-19, plus tard le 11 mars 2020, a évalué que COVID-19 peut être qualifié de pandémie (Guarner J,2020).

La transmission était principalement de personne à personne par le biais de gouttelettes infectieuses qui se sont produites lors de la toux ou des éternuements, par contact personnel (serrer la main) ou en touchant des surfaces contaminées.

On pense que les coronavirus SARSCoV-2, SRAS et MERS sont originaires de chauves-souris et transmis à l'homme à partir d'un hôte intermédiaire, des civettes et des dromadaires, respectivement. Pour le SRAS-CoV-2, la source zoonotique et l'hôte intermédiaire ne sont pas encore confirmés et les recherches sont en cours (Guo Y R *et al* ...2019)

Le SRAS-CoV-2 mutera au fil du temps au fur et à mesure que les transmissions se produiront et que le virus se propagera ; bien que, notamment, il ait été précédemment observé que les coronavirus, qui sont des virus à ARN simple brin avec une taille de génome relativement grande (30 000 bases), ont tendance à avoir des taux de mutation plus faibles que les autres virus à ARN (Guarner J,2020)

Les chercheurs utilisent actuellement l'alignement de séquences de génomes entiers et la construction d'arbres phylogénétiques pour étudier l'évolution du SRAS-CoV-2 à une échelle macro et microscopique .

Dans des études plus granulaires, les premiers travaux de chercheurs basés en Chine, analysant 103 génomes séquences, ont identifié deux nucléotides simples fortement liés, les amenant à suggérer que deux sous-types majeurs avaient émergé : un appelé « L », principalement trouvé dans la région de Wuhan, et « S », qui dérive de « L » et trouvé ailleurs (Tang X *et al.*2020). Par la suite, une plus grande diversité a été reconnue alors que le virus continuait de se propager et les chercheurs ont développé une séquence de référence consensuelle pour le SRAS-CoV-2, à laquelle d'autres séquences peuvent être comparées (Wang C *et al.*2020). Les chercheurs ont continué à publier des études sur les variantes spécifiques dans le contexte d'épidémies localisées (Sekizuka T *et al.*,2020), ainsi que sur les épidémies régionales et leur impact international (Tang X *et al.*,2020 ;Wang M *et al.*,2020 ;Fauver JR *et al.*,2020).

Les vaccins sont le meilleur moyen fiable et rentable d'éviter et de gérer les maladies infectieuses (Wang M *et al.*2020). La pandémie de COVID-19 et l'augmentation des décès qui en résulte dans le monde ont rendu le développement de un vaccin efficace contre le SRAS-CoV-2 d'une importance urgente.

A la lumière de ces données, notre travail a pour objectif de faire une synthèse bibliographique sur les différents variants Sars-CoV 2. Notre travail est réparti en trois chapitres, dont le premier avons présenté des généralités sur le coronavirus Nous avons abordé dans le deuxième chapitre les différentes variante du virus , mutations, classification des variantes, génomique et protéomique des mutations survenantes dans le SARS cov-2.Un dernier chapitre est consacré aux vaccins, generalité,techniques des vaccins.

**Chapitre 1 :**  
**Coronavirus 2 du syndrome**  
**respiratoire aigu sévère**  
**(SARS-CoV-2)**

## **1. Présentation générale :**

Les coronavirus sont un groupe diversifié de virus infectant de nombreux animaux différents, et ils peuvent provoquer des infections respiratoires légères à graves chez l'homme. En 2002 et 2012, respectivement, deux coronavirus hautement pathogènes d'origine zoonotique, le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) et le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV), sont apparus chez l'homme et ont provoqués une maladie respiratoire mortelle (Cui, J *et al.*,2019).Le SRAS CoV-2 s'est avéré être un virus à ARN simple brin de sens positif appartenant au genre bêta coronavirus (Chih-Cheng Lai *et al.*,2020).

## **2. Historique :**

Il y a eu deux événements au cours des deux dernières décennies au cours desquels le croisement de virus bêta-corona animaux avec l'homme a entraîné une maladie grave.

Le premier cas de ce type a eu lieu en 2002-2003 lorsqu'un nouveau coronavirus du genre  $\beta$  et originaire de chauves-souris est passé à l'homme via l'hôte intermédiaire des chats civettes de palme dans la province chinoise du Guangdong .

Ce virus, désigné comme coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère a touché 8422 personnes principalement en Chine et à Hong Kong et causé 916 décès (taux de mortalité 11 %) avant d'être contenu (Chan-Yeung M *et al.*2003).

Près d'une décennie plus tard, en 2012, le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV), également d'origine chauve-souris, est apparu en Arabie saoudite avec des dromadaires comme hôte intermédiaire et a touché 2494 personnes et causé 858 décès (taux de mortalité 34 %) (WHO 2020).

En décembre 2019, les autorités de Wuhan, en Chine, ont signalé pour la première fois le nouveau coronavirus (SARS-CoV-2). Puis, le SARS-CoV-2 est rapidement propagé à d'autres provinces en Chine et aux autres pays du monde (Ge *et al.* 2020

## **3. Génomique, phylogénie et taxonomie :**

En tant que nouveau bêta coronavirus, le SARS-CoV-2 partage 79 % d'identité de séquence génomique avec le SRAS-CoV et 50 % avec le MERS-CoV (Lu, R *et al.*,2020).

Son organisation génomique est partagée avec d'autres bêta coronavirus. Les six cadres ouverts de lecture (ORF) fonctionnels sont disposés dans l'ordre de 5' à 3' : réplicase (ORF1a/ORF1b), pointe (S), enveloppe (E), membrane (M) et nucléocapside (N). De plus, sept ORF putatifs codant pour des protéines accessoires sont intercalés entre les gènes de structure (Chan, J. F *et al.*...2020) (figure1)

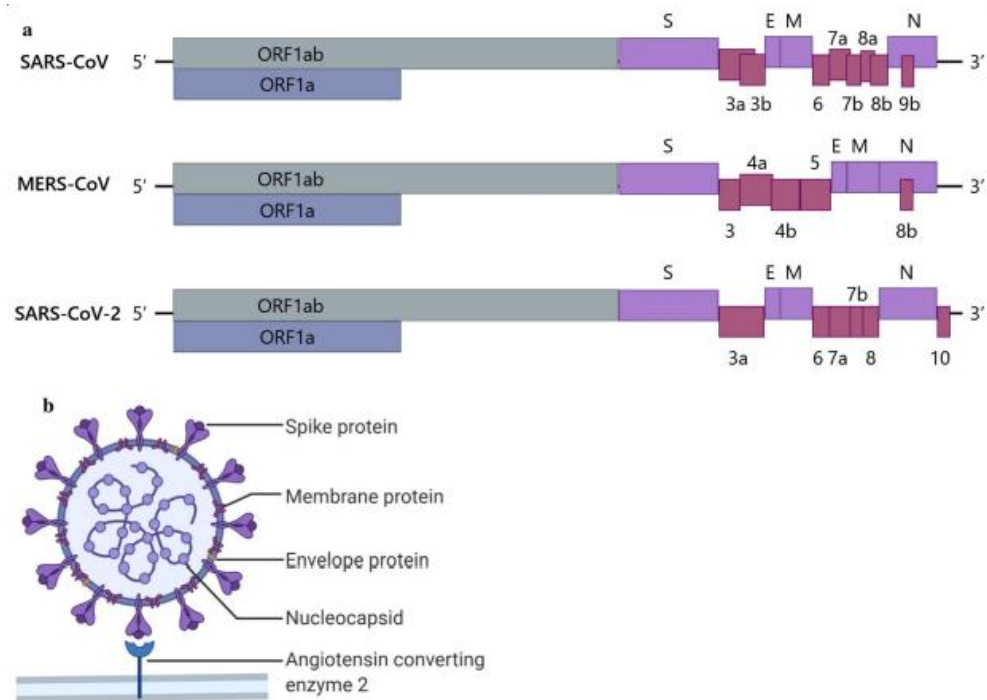


Figure 1: La structure du génome et du virion des coronavirus (CoV). a La structure du génome du SARS-CoV, du MERS-CoV et du SARS-CoV-2.

L'extrémité 5' du génome du CoV contient deux cadres de lecture ouverts (ORF) qui se chevauchent : ORF 1a et ORF 1b, couvrant les deux tiers de la longueur du génome. ORF 1a et ORF 1b peuvent être traduits en deux polyprotéines (pp), pp1a et pp1ab, qui sont ensuite clivées en 16 protéines non structurales (Nsp). L'extrémité 3'-terminale du génome du CoV code quatre protéines structurales majeures dans l'ordre des protéines de pointe (S), d'enveloppe (E), de membrane (M) et de nucléocapside (N). Les protéines accessoires spécifiques au genre sont également codées à l'extrémité 3' du génome du CoV. b La structure du virion du Sars-CoV-2. Les protéines de pointe (S), d'enveloppe (E), de membrane (M) forment l'enveloppe du CoV et les protéines de nucléocapside (N) forment la capsid pour emballer l'ARN génomique. La protéine de pointe se lie à l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) sur la membrane cellulaire, ce qui permet au virus pour entrer dans la cellule. (Créé avec BioRender.com.)



La plupart des protéines codées par le SARS-CoV-2 ont une longueur similaire aux protéines correspondantes du SARS-CoV. Sur les quatre gènes de structure, le SARS-CoV-2 partage plus de 90 % d'identité d'acides aminés avec le SARS-CoV, à l'exception du gène S, qui diverge (Zhou, P *et al.*2020, Lu, R *et al.*2020).

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

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

L'analyse phylogénétique de l'ensemble du génome montre que le Sars-CoV-2 est regroupé avec le SRAS-CoV et les coronavirus liés au (Sars-CoV-2) trouvés chez les chauves-souris, le plaçant dans le sous-genre Sarbecovirus du genre Beta coronavirus.

Au sein de ce clade, le Sars-CoV-2 est regroupé dans une lignée distincte avec quatre isolats de coronavirus de chauve-souris en fer à cheval (RaTG13, RmYN02, ZC45 et ZXC21) ainsi que de nouveaux coronavirus récemment identifiés chez les pangolins, qui se regroupent parallèlement au Sars-CoV et à d'autres Sars-CoV (Figure 2).

À l'aide de séquences de cinq domaines réplcatifs conservés dans pp1ab (protéase de type 3C (3CLpro), nidovirus RNA-dependent RNA polymérase (RdRp)-associated nucleotidyltransferase (NiRAN), RdRp, zinc-binding domain (ZBD) et HEL1), l'étude Coronaviridae Le groupe du Comité international de taxonomie des virus a estimé les distances patristiques par paires entre le SARS-CoV-2 et les coronavirus connus, et attribué le SARS-CoV-2 à l'espèce existante Sars-CoV (Coronaviridae Study Group of the International Committee,2020).

Bien que phylogénétiquement lié, le SRAS-CoV-2 est distinct de tous les autres coronavirus des chauves-souris et des pangolins de cette espèce (Ben Hu *et al.*2020).

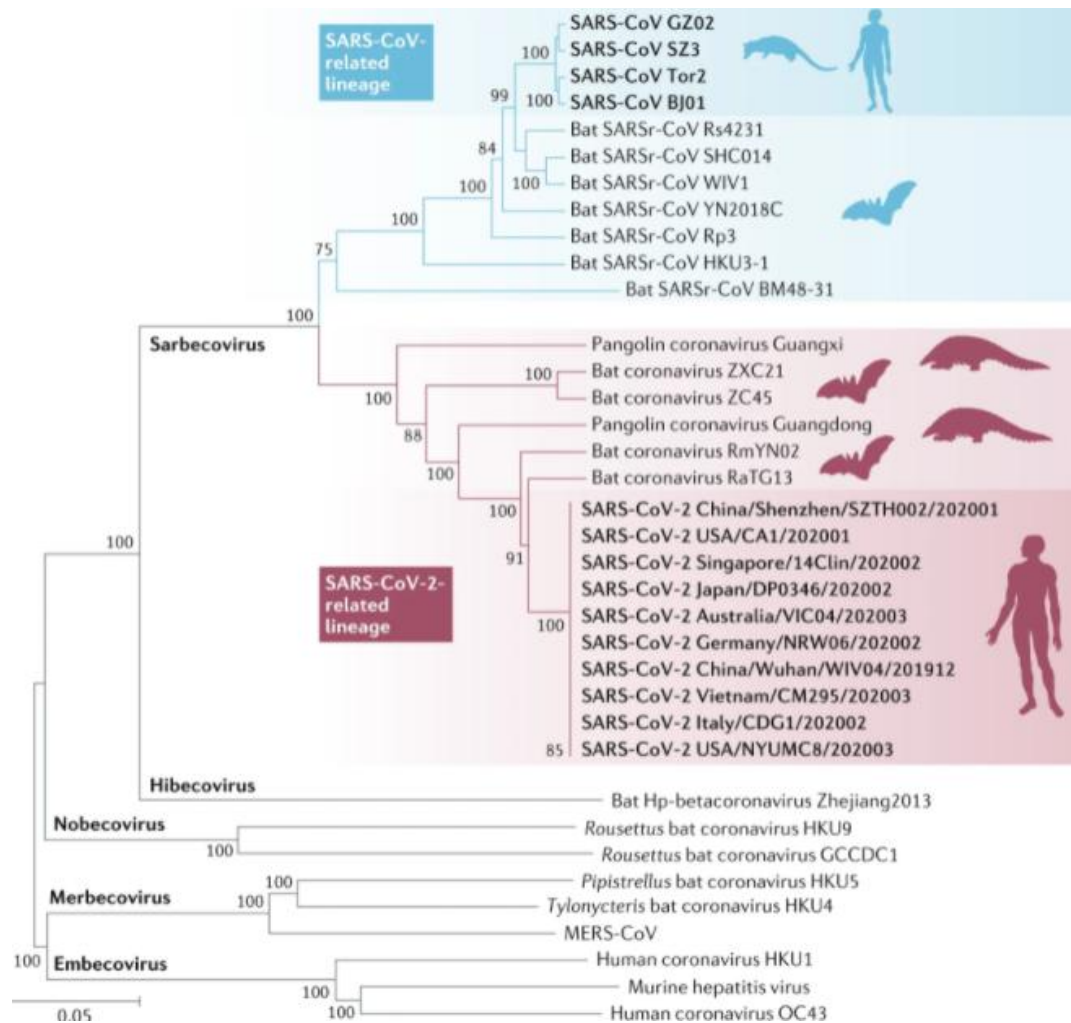


Figure 02 : Arbre phylogénétique des séquences complètes du génome du Sars-CoV-2, du Sars-CoV et d'autres bêta coronavirus. La construction a été réalisée par la méthode de jointure des voisins avec l'utilisation du programme MEGA6 avec des valeurs de bootstrap calculées à partir de 1 000 arbres. Les groupes de coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (Sars-CoV-2) avec des virus étroitement apparentés chez les chauves-souris et les pangolins et avec le Sars-CoV et les coronavirus liés au Sars de chauve-souris (Sars-CoV-2) forment les sarbécovirus. Les séquences ont été téléchargées à partir de la base de données GISAID et GenBank. MERS-CoV, coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (Ben Hu et al.2020).

La protéine Sars-CoV-2 S a une taille complète de 1 273 acides aminés, plus longue que celle du SARS-CoV (1 255 acides aminés) et des Sars-CoV de chauve-souris connus (1 245 à 1 269 acides aminés).

Il est distinct des protéines S de la plupart des membres du sous-genre Sarbecovirus, partageant des similitudes de séquences d'acides aminés de 76,7 à 77,0 % avec les SRAS-

CoV des civettes et des humains, 75 à 97,7 % avec les coronavirus de chauve-souris du même sous-genre et 90,7 à 92,6 % avec les coronavirus du pangolin (Zhou, P. *et al.*2020).

Dans le domaine de liaison au récepteur (RBD) de la protéine S, la similitude des acides aminés entre le SARS-CoV-2 et le SARS-CoV n'est que de 73%. Une autre caractéristique génomique spécifique du SARS-CoV-2 est l'insertion de quatre résidus d'acides aminés (PRRA) à la jonction des sous-unités S1 et S2 de la protéine S (Anderson, K. G *et al.* ,2020) (figure 3a).

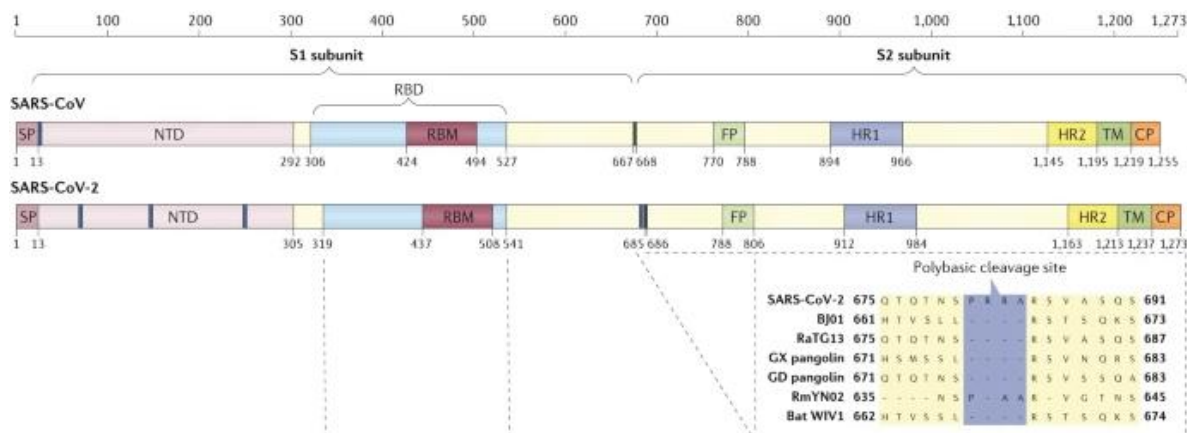
Cette insertion génère un site de clivage polybasique (RRAR), qui permet un clivage efficace par la furine et d'autres protéases (Coutard B *et al.*, 2020). Un tel site de clivage S1-S2 n'est pas observé dans tous les virus apparentés appartenant au sous-genre Sarbecovirus, à l'exception d'une insertion similaire de trois acides aminés (PAA) dans RmYN02, un coronavirus dérivé de chauve-souris récemment signalé chez *Rhinolophus malayanus* en Chine (Zhou H *et al.*2020) (figure 3a).

Bien que l'insertion dans RmYN02 ne représente pas fonctionnellement un site de clivage polybasique, elle soutient l'idée que cette caractéristique, initialement considérée comme unique au SARS-CoV-2, a été acquise naturellement (Zhou H *et al.*2020).

Une étude structurelle a suggéré que le site de clivage de la furine peut réduire la stabilité de la protéine SARS-CoV-2 S et faciliter l'adaptation conformationnelle requise pour la liaison du RBD à son récepteur (Wrobel, A *et al.*2020).

Il reste à démontrer si la transmissibilité plus élevée du SARS-CoV-2 par rapport au SARS-CoV est un gain de fonction associé à l'acquisition du site de clivage de type furine (Anderson K *et al.*2020).

Une distinction supplémentaire est le gène accessoire orf8 du SARS-CoV-2, qui code pour une nouvelle protéine ne présentant que 40 % d'identité d'acides aminés avec l'ORF8 du SARS-CoV. Contrairement au SARS-CoV, cette nouvelle protéine ORF8 ne contient pas de motif déclenchant les voies de stress intracellulaire (Chan J *et al.*2020).



**Figure 3 :** Diagramme schématique de la protéine de pointe (S) du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) et du SARS-CoV-2. Les numéros de résidus de chaque région correspondent à leurs positions dans les protéines S du SRAS-CoV et du SARS-CoV-2. Les blocs bleu foncé représentent les insertions dans la protéine S. Les insertions aux acides aminés 675-691 de la protéine SARS-CoV-2 S sont montrées dans un agrandissement en bas à droite et alignées avec celles d'autres coronavirus dans la même région (Chan J *et al.*2020).

#### 4. Hôte animal et débordement :

Les chauves-souris sont des hôtes naturels importants des alphacoronavirus et des bêta coronavirus. Le plus proche parent du SARS-CoV-2 connu à ce jour est un coronavirus de chauve-souris détecté dans *Rhinolophus affinis* de la province du Yunnan, en Chine, nommé « RaTG13 », dont la séquence du génome complet est identique à 96,2 % à celle du SARS-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 les S et ORF8 hautement variables (Zhou P *et al.*2020).

L'analyse phylogénétique confirme que le SARS-CoV-2 est étroitement lié au RaTG13 (figure 2). La forte similitude génétique entre le SARS-CoV-2 et le RaTG13 soutient l'hypothèse selon laquelle le SARS-CoV-2 provenait probablement des chauves-souris (Paraskevis, D *et al.*2020).

Un autre coronavirus apparenté a été signalé plus récemment chez une chauve-souris *Rhinolophus malayanus* échantillonnée dans le Yunnan. Ce nouveau virus de chauve-souris, noté « RmYN02 », est identique à 93,3% au SRAS-CoV-2 dans tout le

génomique. Dans le gène long 1ab, il présente une identité de 97,2 % avec le SARS-CoV-2, ce qui est encore plus élevé que pour le RaTG13 (Zhou H *et al.*,2020).

En plus de RaTG13 et RmYN02, l'analyse phylogénétique montre que les coronavirus de chauve-souris ZC45 et ZXC21 précédemment détectés chez les chauves-souris *Rhinolophus pusillus* de l'est de la Chine appartiennent également à la lignée SARS-CoV-2 du sous-genre Sarbecovirus (Hu D *et al.*,2018) (figure 2).

La découverte de divers coronavirus de chauve-souris étroitement liés au SRAS-CoV-2 suggère que les chauves-souris sont des réservoirs possibles de SARS-CoV-2 (Lau S.K.P *et al.*,2020).

Néanmoins, sur la base des découvertes actuelles, la divergence entre le SRAS-CoV-2 et les coronavirus de chauve-souris apparentés représente probablement plus de 20 ans d'évolution de séquence, suggérant que ces coronavirus de chauve-souris ne peuvent être considérés que comme le précurseur évolutif probable du SRAS-CoV-2 mais pas comme géniteur direct du SARS-CoV-2 (Zhang Y.Z *et al.*,2020).

### **5. Utilisation des récepteurs et pathogénèse :**

Le Sars-CoV-2 utilise le même récepteur que le Sars-CoV, l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) (Zhou P *et al.*,2020) (Hoffman M *et al.*,2020). Outre l'ACE2 humain (hACE2), le Sars-CoV-2 reconnaît également l'ACE2 du porc, du furet, du singe rhésus, de la civette, du chat, du pangolin, du lapin et du chien (Zhou P *et al.*,2020 ;Shi J *et al.*,2020 ; Chandrashekar, A *et al.*,2020 ;Zhao X *et al.*,2020).

La large utilisation des récepteurs du Sars-CoV-2 implique qu'il peut avoir une large gamme d'hôtes, et l'efficacité variée de l'utilisation de l'ACE2 chez différents animaux peut indiquer leurs différentes susceptibilités à l'infection par le SRAS-CoV-2.

La sous-unité S1 d'un coronavirus est en outre divisée en deux domaines fonctionnels, un domaine N-terminal et un domaine C-terminal. Des analyses structurales et biochimiques ont identifié une région de 211 acides aminés (acides aminés 319 à 529) dans le domaine C-terminal S1 du Sars-CoV-2 en tant que RBD, qui joue un rôle clé dans l'entrée du virus et est la cible des anticorps neutralisants (Shag J *et al.*,2020 ; Walls A.C *et al.*,2020)(Figure 3).

Le RBM médie le contact avec le récepteur ACE2 (acides aminés 437-507 de la protéine Sars-CoV-2 S), et cette région du SARS-CoV-2 diffère de celle du Sars-CoV dans

les cinq résidus critiques pour la liaison ACE2, à savoir Y455L, L486F, N493Q, D494S et T501N (Wan Y *et al.* 2020) (figure 4).

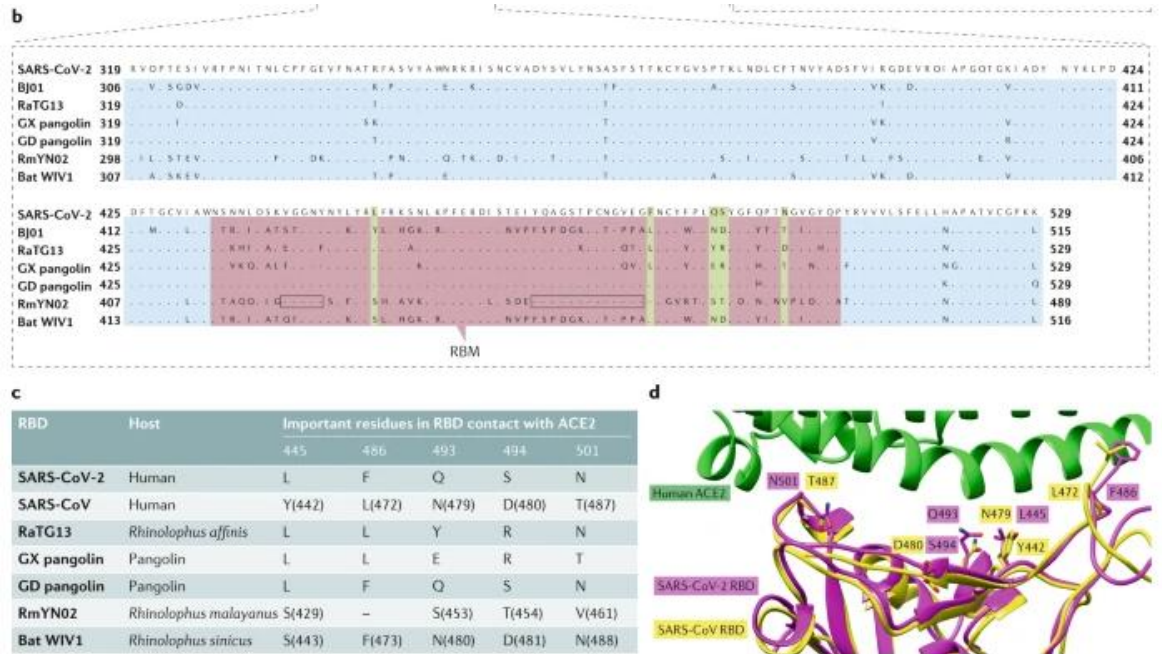


Figure 4 : b | Alignement du domaine de liaison au récepteur (RBD) dans le SARS-CoV-2, le SARS-CoV BJ01, le RaTG13, le coronavirus du pangolin signalé dans le Guangdong, en Chine (pangolin GD), le coronavirus du pangolin signalé dans le Guangxi, en Chine (pangolin GX) et le SRAS des chauves-souris -connexe au coronavirus (Sars-CoV) WIV1. Le motif de liaison au récepteur (RBM) est représenté en violet et les cinq résidus clés qui contactent directement l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2) sont surlignés en vert. c | Cinq résidus critiques dans le RBD du Sars-CoV-2 et d'autres virus. d | Comparaison de la structure du Sars-CoV-2 et du Sars-CoV RBD complexé avec l'ACE2 humain (hACE2); Sars-CoV-2 RBM en violet, Sars-CoV RBM en jaune et hACE2 en vert). Cinq résidus critiques impliqués dans la liaison RBM-ACE2 sont indiqués. Les codes de la banque de données sur les protéines sont 2AJF pour SARS-CoV RBD-hACE2 et 6VW1 pour Sars-CoV-2 RBD-hACE2. Les entrées GenBank sont AY278488 pour le SARS-CoV BJ01, MN996532 pour la chauve-souris Sars-CoV RaTG13, MT121216 et MT072864 pour les coronavirus pangolin GD et GX, respectivement, et KF367457 pour la chauve-souris Sars-CoV WIV1. CP, domaine cytoplasmique; FP, peptide de fusion; HR1, heptade répétée 1; HR2, heptade répétée 2.

répéter 2; NTD, domaine N-terminal; SP, peptide signal; TM, domaine transmembranaire. Springer Nature Limited.

En raison de ces changements de résidus, l'interaction du Sars-CoV-2 avec son récepteur stabilise les deux points chauds de liaison au virus à la surface de hACE2 (Fig. 3d). De plus, un motif à quatre résidus dans le RBM du SARS-CoV-2 (acides aminés 482-485 : GVEG) entraîne une conformation plus compacte de sa crête de liaison hACE2 que dans le SARS-CoV et permet un meilleur contact avec le N- hélice terminale de hACE2 .

Les données biochimiques ont confirmé que les caractéristiques structurales du SARS-CoV-2 RBD ont renforcé son affinité de liaison hACE2 par rapport à celle du SARS-CoV (Shang J *et al.*2020).

À l'instar d'autres coronavirus, le Sars-CoV-2 a besoin d'un traitement protéolytique de la protéine S pour activer la voie endocytique.

Il a été démontré que les protéases de l'hôte participent au clivage de la protéine S et activent l'entrée du Sars-CoV-2, notamment la protéase transmembranaire sérine protéase 2 (TMPRSS2), la cathepsine L et la furine (Hauffman M *et al.*...2020 ; Ou X *et al.*, 2020 ; Shang J *et al.*, 2020).

Les données de séquençage de l'ARN unicellulaire ont montré que TMPRSS2 est fortement exprimé dans plusieurs tissus et sites corporels et est co-exprimé avec ACE2 dans les cellules épithéliales nasales, les poumons et les branches bronchiques, ce qui explique une partie du tropisme tissulaire du SRAS-CoV-2 (Sungnak w *et al.* .2020 ; Lukassen s *et al.* 2020).

Les tests d'entrée du pseudovirus SARS-CoV-2 ont révélé que le TMPRSS2 et la cathepsine L ont des effets cumulatifs avec la furine sur l'activation de l'entrée du virus.

L'analyse de la structure de cryomicroscopie électronique de la protéine SARS-CoV-2 S a révélé que son RBD est principalement à l'état couché, tandis que la protéine SARS-CoV S assume des états de conformation également debout et couché (Shang J *et al.*,2020 ;Walls A.C *et al.*,2020 ;Wrapp D *et al.*,2020 ;Yuan Y *et al.*,2017).

Une conformation allongée de la protéine SARS-CoV-2 S peut ne pas être en faveur de la liaison au récepteur mais est utile pour l'évasion immunitaire (Shang J *et al.*, 2020).

La pathogenèse de l'infection par le SRAS-CoV-2 chez l'homme se manifeste par des symptômes bénins à une insuffisance respiratoire sévère. En se liant aux cellules épithéliales des voies respiratoires, le SRAS-CoV-2 commence à se répliquer et à migrer

vers les voies respiratoires et pénètre dans les cellules épithéliales alvéolaires des poumons. La réplication rapide du SRAS-CoV-2 dans les poumons peut déclencher une forte réponse immunitaire.

Le syndrome de tempête de cytokines provoque un syndrome de détresse respiratoire aiguë et une insuffisance respiratoire, qui est considéré comme la principale cause de décès chez les patients atteints de COVID-19 (Huang C *et al.*2020 ; Mehta P *et al.*2020). Les patients plus âgés (> 60 ans) et atteints de maladies préexistantes graves ont un risque plus élevé de développer un syndrome de détresse respiratoire aiguë et la mort (Wu C *et al.*2020) (figure 4)

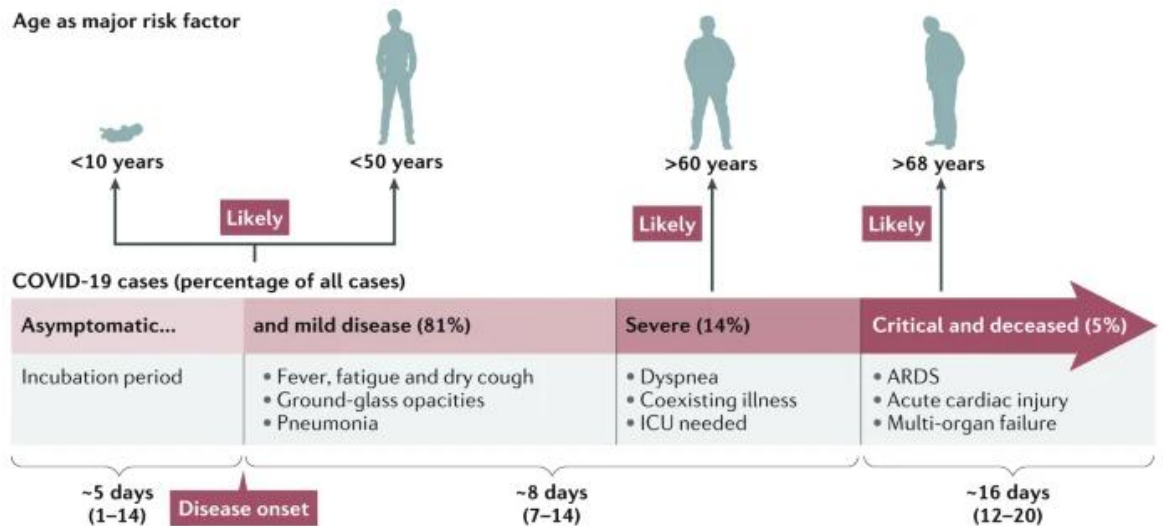


Figure 5 : Les symptômes typiques de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) sont la fièvre

la toux sèche et la fatigue et, dans les cas les plus graves, la dyspnée. De nombreuses infections, en particulier chez les enfants et les jeunes adultes, sont asymptomatiques, tandis que les personnes âgées et/ou les personnes présentant des comorbidités courent un risque plus élevé de maladie grave, d'insuffisance respiratoire et de décès. La période d'incubation est d'environ 5 jours, la maladie grave se développe généralement environ 8 jours après l'apparition des symptômes et la maladie grave et la mort surviennent à environ 16 jours. SDRA, syndrome de détresse respiratoire aiguë ; Unité de soins intensifs, unité de soins intensifs (Yao X *et al.*2020)

## 6. Diagnostique :

Un diagnostic précoce est crucial pour contrôler la propagation du COVID-19. La détection moléculaire de l'acide nucléique du SRAS-CoV-2 est l'étalon-or.



De nombreux kits de détection d'acides nucléiques viraux ciblant les gènes ORF1b (y compris RdRp), N, E ou S sont disponibles dans le commerce. Le temps de détection varie de quelques minutes à quelques heures selon la technologie (Cordes A.K *et al.*2020).

La détection moléculaire peut être affectée par de nombreux facteurs. Bien que le SRAS-CoV-2 ait été détecté à partir de diverses sources respiratoires, y compris les prélèvements de gorge, la salive oropharyngée postérieure, les prélèvements nasopharyngés, les expectorations et le liquide bronchique, la charge virale est plus élevée dans les échantillons des voies respiratoires inférieures.

De plus, des acides nucléiques viraux ont également été trouvés dans des échantillons du tractus intestinal ou du sang, même lorsque les échantillons respiratoires étaient négatifs.

Enfin, la charge virale peut déjà chuter par rapport à son niveau maximal lors de l'apparition de la maladie. En conséquence, les faux négatifs peuvent être courants lorsque les écouvillonnages oraux sont utilisés, et donc plusieurs méthodes de détection doivent être adoptées pour confirmer un diagnostic de COVID-19.

D'autres méthodes de détection ont donc été utilisées pour pallier ce problème. La tomographie par densité thoracique a été utilisée pour identifier rapidement un patient lorsque la capacité de détection moléculaire était surchargée à Wuhan.

Les patients atteints de COVID-19 présentaient des caractéristiques typiques au scanner initial, notamment des opacités bilatérales en verre dépoli multilobaire avec une distribution périphérique ou postérieure.

Ainsi, il a été suggéré que la tomographie par densité combinée à des tests d'écouvillonnage répétés devrait être utilisée pour les personnes présentant une forte suspicion clinique de COVID-19 mais dont le test est négatif lors du dépistage initial des acides nucléiques.

Enfin, les tests sérologiques Sars-CoV-2 détectant des anticorps contre la protéine N ou S pourraient compléter le diagnostic moléculaire, en particulier dans les phases tardives après l'apparition de la maladie ou pour des études rétrospectives.

Cependant, l'étendue et la durée des réponses immunitaires ne sont toujours pas claires, et les tests sérologiques disponibles diffèrent dans leur sensibilité et leur spécificité, qui doivent tous être pris en compte lorsque l'on décide des tests sérologiques et interprète leurs résultats ou potentiellement dans le futur test pour les réponses des lymphocytes T (Kanne J P *et al.*2020)



**Chapitre 2 :**  
**les variantes du Sars-**  
**CoV-2**

## **1 Mutations:**

### **1.1 Définitions :**

Une mutation est un événement qui produit des changements héréditaires dans l'ADN. Il existe de nombreux types de mutations, y compris des mutations ponctuelles (changements qui impliquent une perte, une duplication ou des altérations de petits segments d'ADN, impliquant souvent un seul ou quelques nucléotides) et des modifications majeures de l'ADN (perte, duplication ou réarrangements de gènes entiers ou de segments de gènes) (Daniele Castiglia,2010)

### **1.2 Types de mutations :**

#### **1.2.1 Les mutations par substitution :**

La substitution est une forme de mutation. Dans cette mutation, l'anomalie est provoquée par le remplacement d'un nucléotide par un autre ou, dans notre exemple, d'une lettre par une autre.

##### **1.2.1.1 Mutation faux-sens :**

En génétique, une mutation faux-sens est une mutation ponctuelle dans laquelle un seul changement de nucléotide entraîne un codon qui code pour un acide aminé différent (Rabbani B *et al.*,2012).

##### **1.2.1.2 Mutation non-sens :**

Une mutation non-sens est la substitution d'une seule paire de bases qui conduit à l'apparition d'un codon stop là où il y avait auparavant un codon spécifiant un acide aminé. La présence de ce codon stop prématuré entraîne la production d'une protéine raccourcie et probablement non fonctionnelle (Ghanem N *et al.*,1992)

##### **1.2.1.3 Mutation silencieuse :**

Un changement de nucléotide dans l'ADN qui n'entraîne pas de changement d'acide aminé dans la protéine est appelé mutation « synonyme » ou « silencieuse » (Mahdieh N *et al.*,2010)

#### **1.2.2 Les mutations décalantes :**

Dans les deux derniers cas de mutation, la modification entraîne un décalage du cadre de lecture qui provoque l'apparition prématurée d'une instruction « stop » provoquant

l'arrêt de la synthèse de la protéine concernée. Le décalage ne survient que si le nombre de bases modifiées n'est pas un multiple de trois.

#### **1.2.2.1 Insertion :**

Ajout d'une ou plusieurs paires de bases de nucléotides dans une séquence d'ADN ; si le nombre de nucléotides n'est pas divisible par trois à partir de la séquence d'ADN, cela s'appelle une mutation de décalage du cadre de lecture ( Schrijver I et al .,2020)

#### **1.2.2.2 Délétion :**

La délétion est un type de mutation impliquant la perte de matériel génétique. Il peut être petit, impliquant une seule paire de bases d'ADN manquante, ou grand, impliquant un morceau d'un chromosome (Mahdieh N *et al.*,2010).

#### **1.2.2.3 Mutation par duplication :**

La duplication est un type de mutation qui implique la production d'une ou plusieurs copies d'un gène ou d'une région d'un chromosome. Les duplications de gènes et de chromosomes se produisent dans tous les organismes, bien qu'elles soient particulièrement importantes chez les plantes. La duplication des gènes est un mécanisme important par lequel l'évolution se produit (Garcia-Garcia AB *et al.*,2001).

### **1.3 les mutations du Sars-CoV-2 :**

Le Sars-CoV-2, comme tous les virus, accumule des mutations – des changements dans son code génétique – au fil du temps à mesure qu'il se réplique. Ce virus possède des mécanismes de réparation de l'ARN inhérents et accumule donc des mutations à un rythme relativement plus lent que la plupart des autres virus à ARN.

En moyenne, un génome d'un virus collecté en octobre 2020 présente une vingtaine de mutations par rapport à la première souche séquencée en janvier 2020 (Wuhan-Hu-1) (Rapid Risk Assessment.2020).

Sur tous les génomes viraux séquencés à ce jour, des milliers de mutations sont apparues depuis le début de la pandémie, qui à leur tour ont donné naissance à des milliers de variantes différentes. La majorité n'a eu aucun impact perceptible

sur la biologie du virus ou de la maladie et peut servir de «code-barres» génétique utile pour suivre la propagation et l'évolution virales.

Cependant, plus récemment, plusieurs variantes ont été identifiées qui semblent augmenter la transmissibilité et potentiellement avoir un impact sur la gravité de la maladie. En conséquence, ils ont été étiquetés COV (Andrews S.M *et al.*2017).

## **2. Classification des variants :**

Le SARS-CoV-2 Interagency Group (SIG) du gouvernement américain a développé un schéma de classification des variantes qui définit trois classes de variantes du SARS-CoV-2 :

### **2.1 Variants d'intéret :**

Est une variante avec des marqueurs génétiques spécifiques qui ont été associés à des modifications de la liaison aux récepteurs, une neutralisation réduite par des anticorps générés contre une infection ou une vaccination antérieure, une efficacité réduite des traitements, un impact diagnostique potentiel ou une augmentation prévue de la transmissibilité ou de la gravité de la maladie (OMS,2021)

Les variantes d'intérêt qui sont actuellement étroitement surveillées comprennent la variante P.2 au Brésil, d'intérêt car elle abrite une mutation E484K observée dans d'autres COV (Naveca, F *et al.*2021), et la variante CAL.20C en Californie, avec une mutation L452R suggérant une transmissibilité accrue (Zhan W *et al.*2021).

De multiples variantes avec la mutation Q677P, également soupçonnés d'augmenter la transmissibilité, ont été identifiés dans un certain nombre d'États aux États-Unis (Hodcroft E.B *et al.* , 2021).

Selon l'Organisation panaméricaine de la santé (OPS) de l'OMS, trois nouvelles variantes ont été détectées dans 14 pays des Amériques et signalées comme pouvant causer une propagation accrue et une maladie plus grave (Epidemiological update.2021).

Au Royaume-Uni, une deuxième variante nommée VOC202102/02 - c'est-à-dire B.1.1.7 avec une mutation E484K supplémentaire - a été qualifiée de COV par Public Health England, car elle conserve les caractéristiques du COV B.1.1.7 d'origine, mais avec une mutation supplémentaire. Elle a été associée à un nombre limité de cas et est étroitement surveillée.

Un autre variant avec une mutation E484K est également surveillé (Public Health England, 2021). Ces variantes et d'autres doivent encore être évaluées plus avant pour déterminer s'il s'agit de COV et si elles ont un impact mondial.

## **2.2 Variant préoccupant :**

Variant pour lequel il existe des preuves d'une augmentation de la transmissibilité, d'une maladie plus grave (augmentation des hospitalisations ou des décès), d'une réduction significative de la neutralisation par les anticorps générés lors d'une infection ou d'une vaccination antérieure, d'une efficacité réduite des traitements ou des vaccins, ou d'échecs de détection diagnostique.

Les données génomiques sont essentielles pour soutenir l'identification des variantes préoccupantes et la mise en place d'un système de surveillance génomique efficace peut permettre leur identification le plus rapidement possible. Le Royaume-Uni et l'Afrique du Sud, où des ces variantes ont été identifiées, ont mis en place des initiatives de séquençage du génome dès le début de la pandémie : COG-UK (COG UK, 2021) et NGS-SA, respectivement (KRISP, 2021).

Au Royaume-Uni, la variante B.1.1.7 a été identifiée pour la première fois comme variante préoccupante par le COG-UK en décembre 2020, car sa fréquence augmentait lors d'un verrouillage national, tandis que d'autres variantes diminuaient en fréquence.

La variante B.1.1.7 est actuellement la plus séquencée et la mieux caractérisée, et il a été démontré qu'elle présentait des niveaux de transmissibilité accrus à un taux compris entre 40 et 70 % (Volz E et al ... 2021). En outre, un document du New and Emerging Respiratory Virus Threats Advisory Group (NERVTAG) a présenté les résultats de plusieurs analyses

préliminaires de B.1.1.7, suggérant qu'il pourrait être une augmentation des taux de mortalité à la suite de la variante. Le traqueur de mutation COG-UK décrit les mutations de la protéine de pointe observées en circulation au Royaume-Uni. Il détaille également les preuves scientifiques à ce jour sur l'impact de différentes mutations sur l'évasion immunitaire (Burki T, 2021)

En Afrique du Sud, la variante B.1.351 a été identifiée après que des cliniciens de première ligne ont alerté NGS-SA d'une augmentation rapide des cas, ce qui a incité une enquête génomique. La variante B.1.351 est préoccupante car il a été démontré qu'elle augmentait la transmissibilité et réduisait l'efficacité de certains vaccins (Madhi, S *et al.* , 2021).

Dans le cas du variante P.1, le Japon a signalé une détection chez quatre voyageurs de retour du Brésil .La variante a été signalée comme préoccupante en raison de la présence de mutations de pointe également trouvées dans la variante B.1.351 : N501Y (qui augmente l'affinité de liaison du virus au récepteur ACE2 sur les cellules humaines), E484K (qui rend le virus moins sensible à certains anticorps monoclonaux) et K417N/T (suggéré pour augmenter l'affinité de liaison à l'ACE2, en association avec N501Y). L'ensemble des mutations/délétions, en particulier N501Y, partagé entre les variantes P.1, B.1.1.7 et B.1.351 semble être apparu indépendamment.

La quatrième variante, le groupe 5, a été identifié dans des élevages de visons au Danemark et aux Pays-Bas. Une action rapide des autorités locales de santé publique dans ces pays a stoppé la propagation de cette variante, et on pense maintenant qu'il est éteint (Miner B.E, 2021).

### 2.3 Variant de conséquence élevée :

Une variante de conséquence élevée a des preuves claires que les mesures de prévention ou les contre-mesures médicales (MCM) ont considérablement réduit l'efficacité par rapport aux variantes qui circulaient auparavant. Actuellement, il n'y a pas de variantes du SARS-CoV-2 qui atteignent le niveau de conséquence élevé (American College for Emergency Physicians, 2021).



### **3. génomique et protéomique des mutations survenantes dans le SARS-CoV2 :**

Katoh et al,2014 ont repérés les variantes et les mutations dans le génome du virus du SARS, des séquences de différents pays ont été soumises à la base de données de nucléotides NCBI et à la base de données GISAID EpiCoV2M du 19 janvier 2020 au 15 mai

Le rassemblement de 151 génomes « complets » et/ou « partiels » accessibles au public (longueur du génome > 29700 nucléotides = complet ; longueur du génome < 29700 nucléotides = partiel) du SARS-CoV-2 (séquence de référence NC\_045512, GenBank) a été réalisé à partir du 12 mars

#### **3.1 Détection de variants de nucléotides et d'acides aminés :**

Chaque séquence génomique a été alignée sur NC\_045512 à l'aide du MAFFT (Katoh K et al.2017 ; Kuraku S et al.2013) .Les paramètres par défaut tels que présentés dans l'outil Web ont été utilisés pour l'alignement de séquences multiples.

Les variantes nucléotidiques de la séquence de référence (NC\_045512) ont été annotées manuellement et réévalués à l'aide de l'outil « Löw Frequency Variant Detection » du CLC Genomics Workbench 20.0.3. (QIAGEN Bioinformatics, Aarhus, Danemark). Les mutations des régions codantes et non codantes ont été enregistrées.

À l'aide des mutations nucléotidiques, les mutations d'acides aminés résultantes dans tout le protéome du SARS-CoV-2 ont été déterminées.

Les changements d'acides aminés ont été automatiquement annotés à l'aide de l'outil « Map Reads to Reference » et d'une exécution ultérieure dans l'outil « Low Frequency Variant Detection » dans le CLC Genomics Workbench 20.0.3. Le protéome résultant de chaque génome du SRAS-CoV-2 a été créé et édité à l'aide de CLC Genomics Workbench 20.0.3.

Le protéome entier a ensuite été aligné pour une analyse phylogénétique et pour l'identification des mutations d'acides aminés résultantes.

### 3.2 Les arbres phylogénétiques :

Un arbre phylogénétique basé sur les gènes traduits codant pour les protéines du SARS-CoV-2 a été construit à l'aide de la même ligne de commande dans IQ-TREE version 1.6.12 et a également été édité et visualisé à l'aide de MEGA X.12-15 (Christsian Luke *et al.*2021)

### 3.3 L'analyse des données :

Les points chauds de mutation ont été identifiés comme des sites génomiques avec deux mutations ou plus ; d'autre part, les points froids des mutations sont ceux où aucune mutation ne se produit. La caractérisation des mutations nucléotidiques s'est faite en fonction de la nature de la substitution nucléotidique (transition ou transversion) et de l'insertion et des délétions (indel). Les densités de mutation (Eq. 1) dans le génome et le protéome du SARS-CoV-2 ont été déterminées.

*Densité de mutation = nombre de mutations ÷ la taille du génome (nt) ou protéome (aa)*

Les substitutions d'acides aminés ont été caractérisées en fonction de la nature du changement qui s'est produit (par exemple, la leucine à l'isoleucine serait classée sous « changement similaire », la sérine à la phénylalanine serait classée sous « polaire <> neutre », l'acide aspartique à la sérine serait classé sous « » Chargé <> Polaire", tandis que l'Acide Glutamique à la Glycine serait "Chargé <> Neutre").

De plus, les substitutions d'acides aminés conduisant à des résidus de nature similaire ont été classées dans la catégorie « Changement similaire », tandis que les substitutions qui n'ont pas produit d'acides aminés de nature similaire ont été classées dans la catégorie « Changement différent » (Christsian Luke *et al.*,2021).

Les mutations dans le génome et le protéome du SARS-CoV-2 sont décrites par zone géographique (Chine, États-Unis et autres) en deux temps (décembre 2019-mars 2020 ; décembre 2019-mai 2020).

Cette section commence par la présentation des données phylogénétiques selon les séquences nucléotidiques et les acides aminés du SARS-CoV-2. Ensuite, les types de substitution de nucléotides (transversions, transitions et InDels) ont été identifiés par zone géographique dans les deux points temporels.

Ceci a été suivi d'une présentation des substitutions d'acides aminés dues à des mutations de nucléotides. Enfin, des mutations et des schémas de mutation remarquables dans les protéines du SARS-CoV-2 (glycoprotéine de pointe, ORF8 et nucléocapside) ont été signalés.

### **3.3.1 Les analyses phylogénétiques basées sur les nucléotides et les acides aminés du SRAS-CoV-2 montrent trois clades majeurs du SRAS-CoV-2 et un clade mineur (P6810S ORF1ab) :**

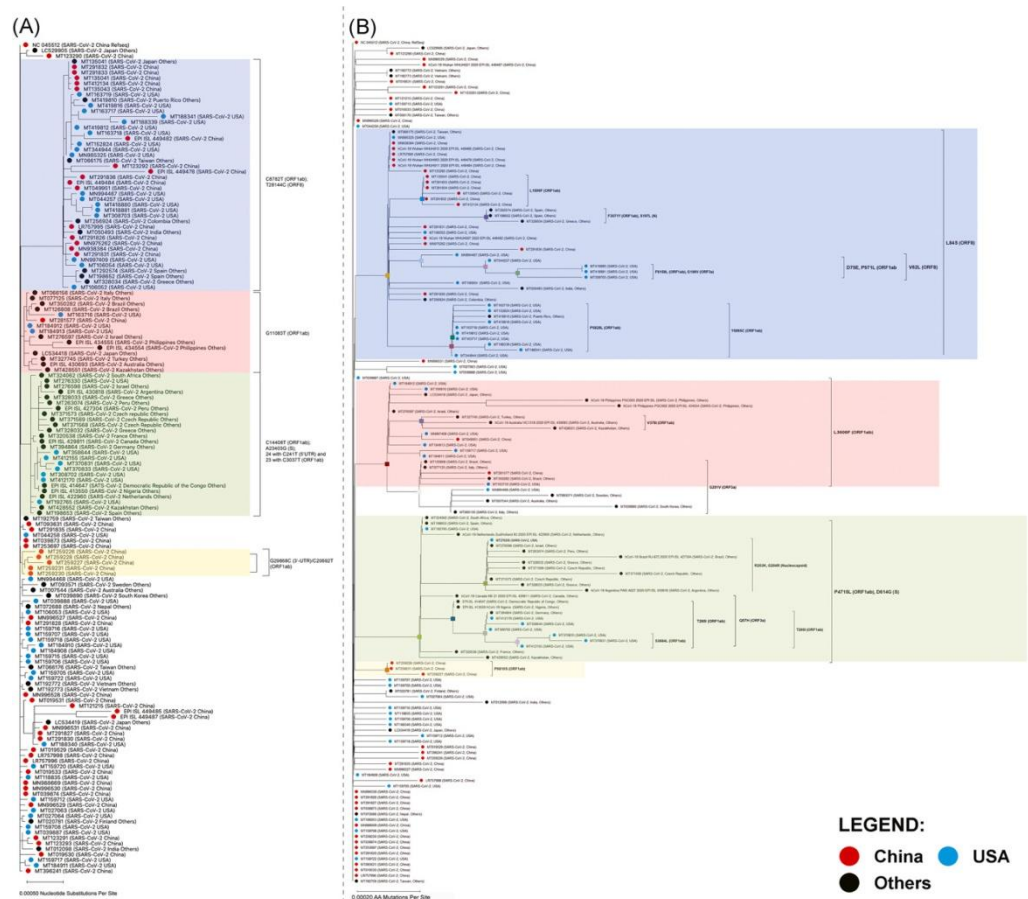
L'analyse phylogénétique des mutations dans différentes régions à l'aide du logiciel MAFFT et trois clades majeurs ont été identifiés. Comme le montre la figure 2, le L3606F (ORF1ab) est caractérisé par la couleur rose, P4715L (ORF1ab)/D614G (S) est mis en évidence par la couleur verte et L84S (ORF8)/S2839S (ORF1ab) est indiqué par la couleur bleue.

Le plus grand de ces clades était le L84S (ORF8), avec 43 échantillons. Cela a été causé par une substitution de transition dans le gène ORF8 (T28144C) conduisant à une substitution L84S dans la protéine ORF8. L84S (ORF8) avait 4 sous-clades ; deux de ces sous-clades avaient également des sous-clades (figure 2B). Le deuxième plus grand clade était le P4715L (ORF1ab)/D614G (S) ayant deux sous-clades. Ces sous-clades ont été identifiés comme R203K et G204R (nucléocapside), et le G57H (ORF3a)/T265I (ORF1ab)/S3384L (ORF1ab).

Enfin, le clade majeur L3606F (ORF1ab) contenait 19 échantillons ; 52,63 % de ces échantillons provenaient de la zone géographique « Autres », 36,84 %

provenaient des États-Unis et 10,53 % provenaient de Chine. Ce clade a également un sous-clade représenté par la mutation V378I (ORF1ab) (Figure 2B).

Une substitution de transversion (29868G>C) dans la 3'-UTR du génome du SRAS-CoV-2 a été identifiée, définissant l'occurrence d'un clade à base de nucléotides. Ce clade contenait également un sous-clade portant une mutation faux-sens dans la 2'-O-ribose méthyltransférase (nsp16) de ORF1ab (20692C>T ; P6810S). Globalement, les mutations classant ce clade ont été identifiées dans cinq échantillons dérivés de la Chine, tandis que P6810S n'a pas été identifié dans la littérature actuelle.



**Figure 6** : Arbre phylogénétique de 151 SARS-CoV-2 à partir de génomes collectés du 12 mars 2020 à avril 2020 auprès de NCBI GenBank™ et GISAID EpiCoV®. (A) Arbre phylogénétique basé sur les génomes du SRAS-CoV-2. (B) Arbre phylogénétique basé sur les protéines du SARS-CoV-2. Les échantillons viraux individuels sont représentés par des points. Les échantillons sous le cluster

géographique « Chine » sont colorés en rouge, bleu pour les séquences sous le cluster géographique « USA », tandis que pour le cluster géographique « Autres », ils sont colorés en noir. SARS-CoV-2, coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère; NCBI, Centre national d'information sur la biotechnologie (Christsian Luke *et al.*,2021).

Une substitution de transversion (29868G>C) dans la région 3'-non traduite (UTR) du génome du SRAS-CoV-2 a été identifiée, définissant l'occurrence d'un clade à base de nucléotides. Ce clade contenait également un sous-clade portant une mutation faux-sens dans la 2'-0-ribose méthyltransférase (nsp16) de ORF1ab (20692C>T; P6810S). Dans l'ensemble, les mutations classant ce clade ont été identifiées dans cinq échantillons dérivés de la Chine, tandis que P6810S n'a pas été identifié dans la littérature actuelle.

### 3.3.2 La proportion de transitions, de transversion et d'indels dans le génome du Sars-CoV-2 est similaire parmi les zones géographiques :

Dans l'ensemble, au total, 674 mutations nucléotidiques ont été identifiées à l'aide d'échantillons de génome collectés de décembre 2019 à mai 2020 (tableau 1).

**Tableau 1:** Résumé de quelques mutations de nucléotides et d'acides aminés détectées dans le Sars-CoV-2 (Christsian Luke *et al.*,2021).

Région du génome	Chaîne protéique/peptidique	Domaine	Position nucléotidique	Reference	Allele	Fréquence	Fréquence relative	Position AA	Mutation des acides aminés
5'UTR	N/A	N/A	4	A	T	1	0.01	207	R>C
			26	A	-	2	0.04	265	T>I
			28	C	T	2	0.01	271	P>S

			31	A	T	1	0.67	279	Silent
<b>ORF1a</b>	Leader protein/nsp1	Leader protein/nsp2	270	A	G	1	0.01	2	E>G
			313	C	T	3	2	16	Silent
			490	T	A	4	0.03	75	D>E
			508	TGGTCAT GTTATGG T	-	2	0.01	82	G82_ V86de I
			514	T	C	1	0.67	83	Silent
			565	T	C	1	0.67	100	Silent
			614	G	A	1	0.01	117	A>T
<b>S</b>	Spike protein S1/surface glycoprotein S1	Spike protein S1/surface glycoprotein S1 chain	21595	C	T	1	0.01	28	Y>N
			21644	T	A	1	0.67	43	Silent
			21691	C	T	2	0.01	49	H>Y
			21707	C	T	1	0.01	50	S>L
<b>ORF3a</b>	ORF3a protein	ORF3a protein	25433	C	T	1	0.01	14	T>I
			25533	T	A	1	0.67	47	Silent
			25534	G	T	1	0.01	48	V>F
			25563	G	T	5	0.03	57	Q>H
<b>E</b>	Envelope protein	Envelope protein	26326	C	T	2	1.33	28	Silent
			26354	T	A	1	0.01	37	L>H
<b>M</b>	Membrane protein	Membrane protein	26526	G	T	1	0.01	2	A>S

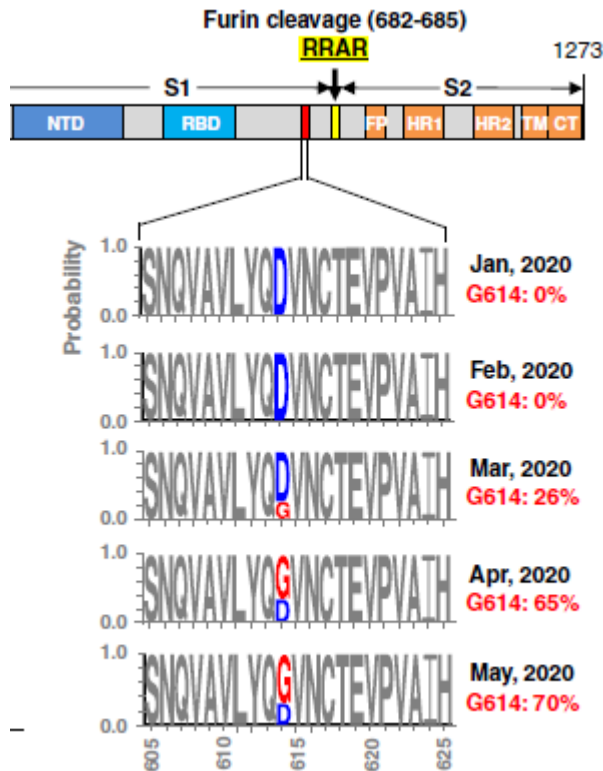
	glycoprotei n	ane glycopr otein	26530	A	G	1	0.01	3	D>G
<b>OR F6</b>	ORF6 protein	ORF6 protein	27225	G	T	1	0.01	8	Q>H
			27299	T	C	1	0.01	33	I>T
<b>OR F7a</b>	ORF7a protein	SARS coronav irus X4 like	27635	C	T	1	0.01	81	S>L
<b>N</b>	Nucleocap sid phosphopr otein	Nucleo capsid phosph oprotei n	28311	C	T	1	0.01	13	P>L
			28378	G	T	2	1.33	35	Silent
<b>OR F10</b>	ORF10 protein	ORF10 Protein	29563	C	T	1	0.67	2	Silent
			29573	G	A	1	0.01	6	V>I
<b>UT R 3'</b>	N/A	N/A	29695	A	G	1	0.67	N/A	N/A
			29700	A	G	3	2		

Abréviations : E, enveloppe ; M, glycoprotéine membranaire ; N, nucléocapside ; S, pointe ; SARS-CoV-2, coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère; UTR, région non traduite.

### 3.3.3 La substitution D614G dans la glycoprotéine de pointe est la mutation la plus fréquente parmi les protéines structurales et s'est produite principalement dans la zone géographique Autres :

Pour le SARS-CoV-2, tous les isolats viraux originaux signalés en janvier 2020 ont une Asparagine à la position d'acide aminé 614 dans la protéine de pointe (D614). Ce résidu a été progressivement remplacé par la glycine (G614) au fil du temps (figure 6). Parmi les souches de SARS-CoV-2 séquencées à l'échelle mondiale, la substitution D614G

était rare avant mars 2020, avec moins de 10 % en fréquence, mais la fréquence D614G a depuis augmenté à plus de 75 % après juin . Les transitions de D614 à G614 se sont produites de manière asynchrone dans différentes régions du monde, y compris même des épidémies locales où le virus de type sauvage (WT) D614 était bien établi avant l'émergence de le variant G614 (Korber et al., 2020) (Korber et al., 2020).



**Figure 7** : Une représentation de la protéine SARS CoV-2 S et de la variation D/G au résidu 614 présentée dans des tracés de logo à différents moments entre le 1er janvier et le 30 mai 2020 (Korber et al., 2020).

De plus, quatre autres points chauds dans la protéine de pointe ont été détectés dans cette étude (tableau 1). Ces données peuvent suggérer que la variante S s'est produite en dehors de la Chine et est plus observée dans des pays distincts et aux États-Unis.

### 3.3.4 Les points froids pour les protéines ORF7b et les points chauds pour les protéines ORF8 sont conservés dans toutes les zones géographiques :



Parmi les zones géographiques, aucune mutation n'a été trouvée dans les protéines ORF6, ORF7a/7b, ORF9b, ORF10 et ORF14 au moment de l'étude précédente, donc considérées comme des points froids à cette période .

D'autre part, à un moment ultérieur, seules les protéines ORF7b, ORF9b et ORF14 ont été identifiées comme des points froids de mutation. Notez que cela peut être dû à des limitations dans l'annotation de diverses régions du génome viral qu'aucune mutation n'a été détectée dans les protéines ORF9b et ORF14, car l'étude a basé l'identification de gènes et de protéines à partir d'annotations accessibles au public à la séquence de référence (NCBI GenBank™ Accession ID : NC\_045512).

Dans l'ensemble, il a été observé que le gène/protéine ORF7b n'avait aucune mutation dans toutes les régions géographiques et entre les moments de l'étude, par conséquent, ce gène peut être potentiellement conservé dans le SRAS-CoV-2.

De manière évidente, la protéine ORF8 présentait la densité de mutation la plus élevée parmi les protéines non structurales (0,223 mutations/site aa au total), similaire dans toutes les zones géographiques similaire à deux moments.

Collectivement, à un moment ultérieur, sa densité de mutations a presque doublé. Parallèlement à l'augmentation des densités de mutations dans d'autres sites notables : a doublé la nsp3 (0,072 mutations/site aa en mars-0,136 mutations/site aa en mai) et quadruplé dans l'ARN polymérase dépendante de l'ARN (RDRP) (0,0139 mutations/ site aa d'ici mars-0,0515 mutations/site aa d'ici mai).

La récurrence des mutations ORF8 a été attribuée à L84S qui était systématiquement la plus fréquente en Chine et aux États-Unis.

Chez d'autres, cependant, la mutation la plus récurrente variait, à savoir G251V dans la protéine 3a plus tôt, tandis que P4715L dans RDRP plus tard. Cela peut suggérer que l'abondance distinctive des mutations ORF8 est généralement similaire entre les différentes zones, car sa fréquence collective augmente avec le temps.

### **3.3.5 La phosphoprotéine nucléocapside (N) présentait la densité de mutation la plus élevée parmi les protéines structurales du SRAS-CoV-2 :**

Pour les deux points dans le temps, N avait la densité de mutation la plus élevée (0,02148 pour les données antérieures ; 0,1122 pour les données globales).

Douze sites nucléotidiques considérés comme des hotspots dans N, comprenant 48% des mutations dans N (tableau 1).

Les densités de mutation des autres protéines structurales sont représentées sur la figure 5B. Fait intéressant, 10 échantillons de SRAS-CoV-2 présentaient une mutation de substitution dans les positions nucléotidiques 28881 à 28883 (GGG> AAC).

Cette mutation nucléotidique a conduit à deux substitutions d'acides aminés (R203K et G204R). Le premier génome du SRAS-CoV-2 enregistré présentant cette mutation provenait de Floride, aux États-Unis (28 février 2020 ; ID d'accession : MT276330) tandis que les neuf autres génomes qui ont cette mutation proviennent de la zone géographique Others (Israël, Pérou, Brésil, Grèce, République tchèque et Argentine).

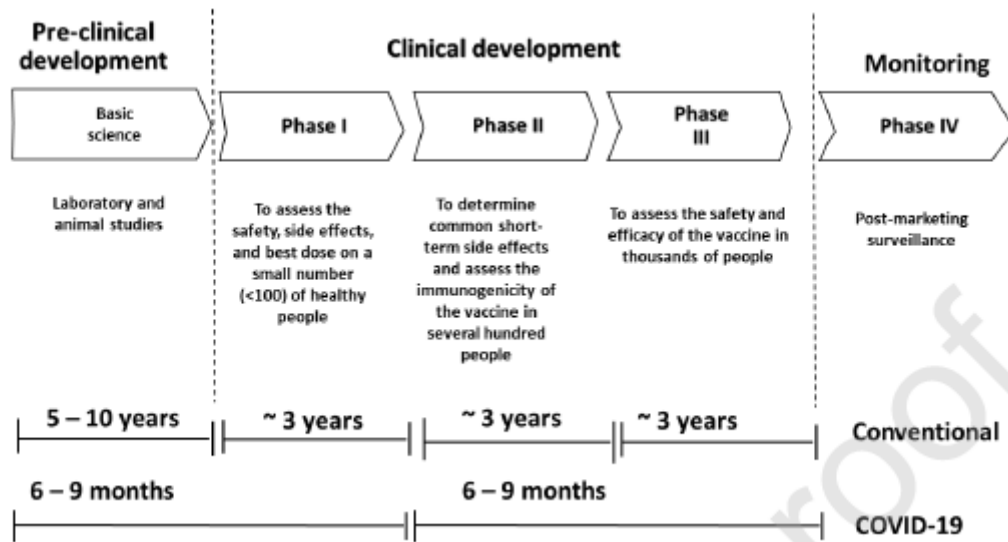
Cependant, l'ordre des densités de mutation des protéines structurales parmi les zones géographiques variait, la zone géographique Autres ayant N comme troisième densité de mutation la plus élevée pour les données globales. Ceux-ci suggèrent que la mutation de la protéine N ne s'est pas produite initialement en Chine mais s'est d'abord produite aux États-Unis (Korber et al., 2020).

# **Chapitre 3 :**

## **les vaccins développés**

## Généralités :

Le processus de développement d'un vaccin est généralement long et fastidieux (Figure 1). Les récents progrès dans le développement du vaccin COVID-19 ont indiqué que les innovations de la recherche sont cumulatives, s'appuyant sur les connaissances déjà existantes. Cela tient compte de la vitesse pandémique à laquelle les vaccins COVID-19 ont été rapidement développés (Duduzile Ndwandwe *et al.*,2021)



**Figure 7** : Développement d'un vaccin COVID-19 par rapport au développement d'un vaccin conventionnel (Duduzile Ndwandwe *et al.*,2021)

Actuellement, il existe 184 vaccins candidats en développement préclinique et 104 en stade de développement clinique (WHO.,2021). Des données récentes indiquent qu'il y a 18 vaccins COVID-19 approuvés et sont actuellement utilisé dans le monde (WHO.,2021) (WHO.,2021). Les vaccins COVID-19 se répartissent en quatre catégories: 1) Vaccins à virus entier (inactivé ou atténué, 2) Vaccin à vecteur viral 3) vaccin à base d'acides nucléiques) et 4) vaccin sous-unité (Nagy A *et al.*,2021).

## 3. Techniques de vaccins

### 3.1 Vaccin à virus entier :

Les vaccins à virus entier utilisent une forme affaiblie (atténuée) ou inactivée du coronavirus pour déclencher une immunité protectrice. Les vaccins vivants atténués utilisent une forme affaiblie du virus, qui peut encore se développer et se répliquer, mais ne cause pas de maladie (Nagy A *et al.*,2021). Les vaccins inactivés contiennent des virus dont le matériel génétique a été détruit par la chaleur, les produits chimiques ou les radiations, de sorte qu'ils ne peuvent

pas infecter les cellules et se répliquer mais peuvent quand même déclencher une réponse immunitaire (Gao Q *et al.*,2020).

Un vaccin à virus entier inactivé du SRAS-CoV-2 a été développé par l'Institut de virologie de Wuhan. La faible toxicité, l'immunogénicité et la persistance immunitaire ont été étudiées dans des études précliniques utilisant 7 différentes espèces d'animaux.

Les résultats ont montré que le vaccin candidat était bien toléré et stimulait des taux élevés d'IgG spécifiques et d'anticorps neutralisants. Une toxicité faible ou nulle chez trois espèces d'animaux a également été démontrée dans l'étude préclinique du vaccin candidat.

L'observation préliminaire des essais cliniques de phase I et II en cours du vaccin candidat dans le comté de Wuzhi, province du Henan, a montré que le vaccin est bien tolérant. Les résultats ont été caractérisés par un faible degré d'effets secondaires, des niveaux élevés d'anticorps neutralisants.

Ces résultats concordent avec les résultats obtenus à partir des données précliniques (Ze-Jun Wang *et al.*,2020). Un vaccin entier inactivé a été développé appelé BBIBP-CORV qui induit des niveaux élevés d'anticorps neutralisants chez la souris, les rats, la Guinée porcs, lapins et primates non humains (singes cynomolgus et rhésus macaques) pour une protection contre le SARS-COV-2.

Les vaccinations à deux doses utilisant 2 mg / dose de BBIBP-CORV fournissent une haute protection contre le SARS-COV-2 dans les macaques rhésus. En outre, BBIBP-CORV présente une productivité efficace et bonne stabilité génétique pour la fabrication de vaccins (Hui wang *et al.*,2020)

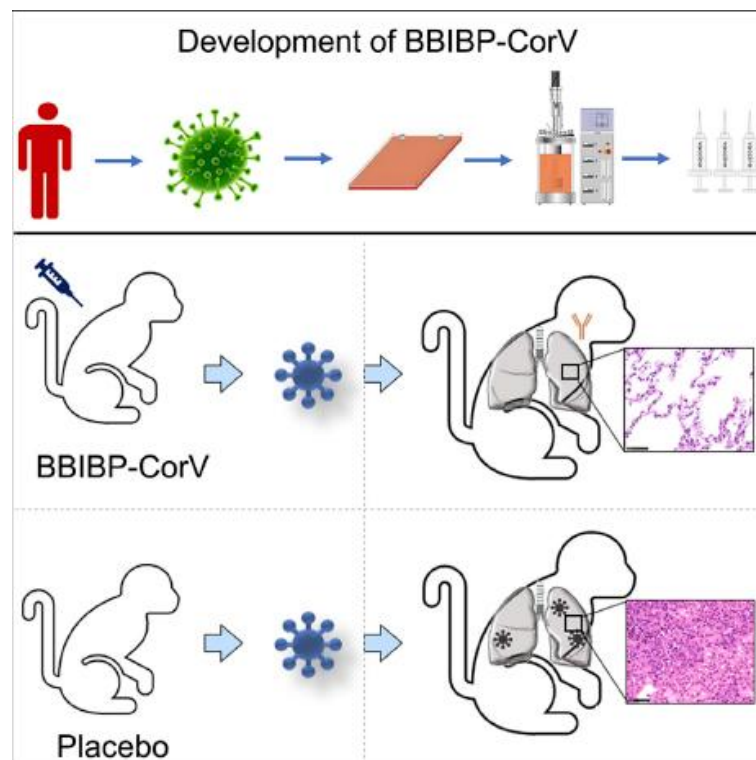
### **3.2 Vaccin à vecteur viral :**

Les virus survivent et se répliquent en envahissant les cellules de leur hôte et en détournant leur machinerie de fabrication de protéines, de sorte qu'il lit le code génétique du virus et fabrique de nouveaux virus . Ces particules virales contiennent des antigènes, des molécules qui peuvent déclencher une réponse immunitaire (Chen Y *et al.*,2020).

Un principe similaire sous-tend les vaccins à vecteur viral. Le vecteur viral agit comme un système de livraison, fournissant un moyen d'envahir la cellule et d'insérer le code des antigènes du SRAS-CoV-2. Le virus utilisé comme vecteur est affaibli chimiquement donc qu'il ne peut pas causer de maladie. De cette façon, le corps peut monter une réponse immunitaire en toute sécurité, sans développer la maladie (Lemaire D *et al.*,2021) (Rauch S *et al.*,2018) .

Avant l'apparition du SARS-CoV-2, un seul virus vaccin vectoriel avait été approuvé pour une utilisation dans la population humaine contre la maladie à virus Ebola (Tomori O *et al.*,2021).

Le vaccin contre Ebola utilise le virus de la stomatite vésiculeuse comme vecteur viral de réplication. Précédemment, un virus de stomatite vésiculaire de réplication-compétent (VSV) a été développé exprimant une forme modifiée du gène SRAS-COV-2 Spike à la place du gène de glycoprotéine natif (VSV-EGFP-SARS-COV-2) (figure7 )



**Figure 8:** étapes de développement du vaccin BBIBP-CorV (Hui Wang *et al.*,2020)

Il a été montré que la vaccination avec VSV-EGFP-SARS-COV-2 génère des réponses immunitaires neutralisantes et protège les souris de SARS-COV-2. La vaccination des souris avec VSV-EGFP-SARS-COV-2 suscite des titres

d'anticorps élevés qui neutralisent le SARS-COV-2 et ciblent le domaine de liaison des récepteurs qui engage une enzyme-2 de conversion de l'angiotensine humaine (ACE2).

Lors du défi avec un isolat humain de SARS-COV-2, des souris qui ont exprimé l'homme Ace2 et ont été immunisées avec VSV-EGFP-SARS-COV-2 montrent une infection virale et une inflammation virale profondément réduite dans le poumon, indiquant une protection contre la pneumonie. Le transfert passif de SERA de VSVEGFP-SARS-COV-2-IMPUMISÉES protège également la souris naïve du défi SARS-COV-2.

Ces données soutiennent le développement de VSV-SARS-COV-2 en tant que vaccin répliqueur atténué et compétent contre SARS-COV-2 (James Brett Case *et al.*,2020)

### **3.3 vaccin à base d'acides nucléiques :**

Les vaccins à base d'acide nucléique SARS-CoV-2 utilisent des instructions génétiques, sous forme d'acide désoxyribonucléique (ADN) ou d'acide ribonucléique (ARN).

Avant COVID-19, aucun vaccin sous licence existant n'utilisait cette technologie. Les vaccins à ADN utilisent un morceau d'ADN codant pour un antigène, qui est d'abord inséré dans un plasmide bactérien. Les plasmides peuvent répliquer indépendamment l'ADN chromosomique et fournir un outil simple pour transférer des gènes entre les cellules.

Pour cette raison, ils sont déjà largement utilisés en génie génétique. Cela permet à la machinerie hôte de traduire le message de l'antigène en protéine à l'intérieur des cellules (Rauch S *et al.*,2018).

Les vaccins à ARN, en revanche, codent l'antigène d'intérêt dans un ARN messager (ARNm) ou ARN auto-amplifiant (Frederiksen LSF *et al.*,2020) (Rauch S *et al.*,2018). L'ARN peut être injecté seul, encapsulé dans des nanoparticules ou introduit dans des cellules en utilisant les mêmes techniques développées pour les vaccins à ADN.

Une fois que l'ADN ou l'ARN est à l'intérieur de la cellule et à produire des antigènes, ceux-ci sont ensuite affichés à sa surface, où ils peuvent être déclencher une réponse immunitaire. Cette réponse comprend les cellules

lymphocytaires T tueuses et les cellules lymphocytaires B productrices d'anticorps et les cellules T auxiliaires qui soutiennent la production d'anticorps (Rodrigues AF *et al.*,2015)(Lemaire D *et al.*,2012).

Il existe actuellement au moins 10 candidats vaccins à ADN et 18 à ARN en cours de développement clinique (WHO.,2021).Plusieurs vaccins à ARNm contre le SRAS-CoV-2 ont été approuvés pour une utilisation d'urgence .

C'est la première fois dans l'histoire de la vaccinologie qu'un vaccin à base d'acides nucléiques est approuvé pour une utilisation dans des programmes de santé publique (WHO.,2021).

### **3.4 Vaccins à base de protéines (sous-unité) :**

Il existe deux types de vaccins à base de protéines, à savoir les vaccins à sous-unités et à particules pseudo-virales (Callaway E.,2020). Les vaccins à sous-unités protéiques sont constitués de fragments antigéniques viraux produits par des techniques de protéines recombinantes (Hsieh CL *et al.*,2020).

Ils sont faciles à produire et relativement sûrs et bien tolérés par rapport aux vaccins à virus entier. La limitation des vaccins à sous-unités protéiques est leur faible immunogénicité (Lemaire D *et al.*,2012).

Par conséquent, les adjuvants sont généralement utilisés avec des vaccins sous-unitaires pour améliorer l'immunogénicité. Les vaccins sous-unitaires existants comprennent ceux contre la coqueluche, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* de type b (Nagy A *et al.*,2021).

Il existe actuellement 33 vaccins candidats à sous-unités protéiques du SRAS-CoV-2 en cours de développement clinique (WHO,2021), dont au moins un qui s'est avéré dans les essais cliniques de phase III induire des titres élevés d'anticorps neutralisants (Keech C *et al.*,2020).

Au-delà des vaccins sous-unitaires, d'autres vaccins candidats à base de protéines contre le SRAS-CoV-2 utilisent des enveloppes virales vides qui imitent la structure du coronavirus mais ne sont pas infectieuses car elles manquent de matériel génétique ; appelées « particules de type virus » (Callaway E.,2020).

Il existe actuellement cinq vaccins à particules virales en développement clinique (WHO,2021). Les vaccins existants qui utilisent cette technologie



comprennent les vaccins contre le virus du papillome humain (Mavundza EJ *et al.*,2020).

### 3.5 Progrès antérieurs du SARS-CoV et du MERS-CoV stratégies de vaccination :

Diverses formes de vaccins ciblant le SARS-CoV et le MERS-CoV ont été développées et testées dans des modèles précliniques. Cependant, seuls quelques-uns d'entre eux sont entrés dans les essais cliniques et aucun d'entre eux n'a été approuvé par la FDA . Ces approches comprennent les vaccins à sous-unités protéiques, les vaccins à particules pseudo-virales, les vaccins à ADN, les vaccins à vecteur viral, les vaccins inactivés entiers et les vaccins vivants atténués. Les sections suivantes décrivent les principes de diverses formes de développement de vaccins contre le SRAS-CoV et le MERS-CoV ( Tableau 2) (Li et al.,2020).

**Tableau 2 : Avantages et inconvénients des différentes plateformes vaccinales**

Plateforme de vaccination	Avantages	Inconvénients	Exemples approuvés cliniquement
<b>Vaccin à virus entier inactivé</b>	Réponse immunitaire plus forte ; Plus sûr que le virus vivant atténué	Altération potentielle de l'épitope par le processus d'inactivation	Virus de la typhoïde, du choléra, de l'hépatite A, Peste, Rage, Grippe, Polio(Salk)
<b>Vaccin vecteur viral</b>	Réponse immunitaire plus forte ; Préservation de l'antigène natif; Imiter infection naturelle	Processus de fabrication plus compliqué ; Risque d'intégration; Réponse atténuée par une immunité préexistante contre le vecteur	Ebola
<b>Vaccin sous-unitaire</b>	Sûr et bien toléré	Immunogénicité inférieure ; Exigence d'adjuvant ou de conjugué pour augmenter l'immunogénicité	Coqueluche, Grippe,Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae type b
<b>Vaccin à ARN</b>	Sûr et bien toléré ; Hautement adaptable aux nouveaux agents pathogènes ; Originaire de expression de l'antigène	Immunogénicité inférieure ; Exigence de stockage à basse température et transport; Risque potentiel de réponse à l'interféron induite par l'ARN	N/A



# CONCLUSION

En conclusion la pandémie Covid-19 a conduit au développement de vaccins et de schémas thérapeutiques à un rythme sans précédent. Bien que cette pandémie ait constaté l'émergence de plusieurs variantes de SARS-COV-2, la plupart des vaccins, sinon tous, se sont révélés efficaces contre eux, bien que d'une efficacité réduite. Nous continuerons à avoir besoin de plus de données cliniques pour projeter les effets à long terme de l'immunité de vaccin et de la durabilité sur les variantes émergentes.

L'avenir semble être prometteur en raison des progrès extraordinaires fabriqués dans la conception et le développement des vaccins Covid-19. Le prochain défi devant nous est de faire des vaccins à la disposition des personnes de toutes les couches de la société, y compris celles des pays moins développés, afin que nous puissions enfin contenir la propagation des infections SRAS-COV-2.

# **Références Bibliographiques**

**American College for Emergency Physicians**,2021.Characteristics of COVID-19 Variants and Mutants.Disponible sur <https://www.acep.org/corona/covid-19-field-guide/characteristics-of-covid-19-variants-and-mutants/characteristics-of-covid-19-variants-and-mutants/>

**Anderson, K. G., Rambaut, A., Lipkin, W. I., Holmes, E. C. & Garry, R. F.** The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat. Med.* **26**, 450–452 (2020).

**Andrews, S. M., Rowland-Jones, S.** Recent advances in understanding HIV evolution. *F1000Res.* 2017. 6: p. 597.

**Ben Hu, Hua Guo, Peng Zhou ,Zheng-Li Shi.** Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology* volume 19, pages141–154 (2021)

**Burki, T.** Understanding variants of SARS-CoV-2. *The Lancet.* 2021. 397(10273): p. 462.

**Callaway E:** The race for coronavirus vaccines: a graphical guide. *Nature* 2020, 580:576-577.

**Chan-Yeung M, Xu RH.** SARS: epidemiology. *Respirology.*2003; 8:S9–14 Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. Available at: <https://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>. Accessed 16 Feb 2020

**Chan, J. F. et al.** Genomic characterization of the 2019 novel human-pathogenic coronavirus isolated from a patient with atypical pneumonia after visiting Wuhan. *Emerg. Microbes Infect.* **9**, 221–236 (2020).

**Chandrashekar, A. et al.** SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques. *Science* 369, 812–817 (2020).

**Chen Y, Li L:** SARS-CoV-2: virus dynamics and host response. *Lancet Infect Dis* 2020, 20:515-516

**Chih-Cheng Lai , Tzu-Ping Shih , Wen-Chien Ko, Hung-Jen Tang , Po-Ren Hsuehe.** Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents.*55, 105924 (2020)

**Christian Luke D.C. Badua, Karol Ann T. Baldo, Paul Mark B. Medina.**2021. Genomic and Proteomic Mutation Landscapes of SARS-CoV-2.*J. Med.Virol*, 92, 1702-1721

**Cordes, A. K. & Heim, A.** Rapid random access detection of the novel SARS-coronavirus-2 (SARS-CoV-2, previously 2019-nCoV) using an open access protocol for the panther fusion. *J. Clin. Virol.* **125**, 104305 (2020).

**Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses.** The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* **5**, 536–544 (2020).

**Coutard, B. et al.** The spike glycoprotein of the new coronavirus 2019-nCoV contains a furin-like cleavage site absent in CoV of the same clade. *Antiviral Res.* **176**, 104742 (2020).

- Cui, J., Li, F. & Shi, Z. L.** Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* **17**, 181–192 (2019).
- Daniele Castiglia , Giovanna Zambruno.** Mutation mechanisms. *Dermatol Clin* 2010 Jan; 28(1):17-22.
- Dudzile Ndwandwe1, Charles S Wiysonge:** COVID-19 vaccines. *Current Opinion in Immunology* 2021, Epidemiological Update: Occurrence of variants of SARS-CoV-2 in the Americas - 26 January 2021. Pan American Health Organization. 2021; Available from: <https://www.paho.org/en/documents/epidemiological-update-occurrence-variants-sars-cov-2-americas-26-january-2021>.
- Fauver JR, Petrone ME, Hodcroft EB, Shioda K, Ehrlich HY, Watts AG, et al.** Coast-to-Coast Spread of SARS-CoV-2 during the Early Epidemic in the United States. *Cell.* 2020; 181:990—996.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.021> PMID: 32386545
- Frederiksen LSF, Zhang Y, Foged C, Thakur A:** The Long Road Toward COVID-19 Herd Immunity: Vaccine Platform Technologies and Mass Immunization Strategies. *Front Immunol* 2020, 11:1817.
- Garcia-Garcia AB, Real JT, Puig O, et al.** Molecular genetics of familial hypercholesterolemia in Spain: Ten novel LDLR mutations and population analysis. *Hum Mutat.* 2001;18(5):458–9
- Gao Q, Bao L, Mao H, Wang L, Xu K, Yang M, Li Y, Zhu L, Wang N, Lv Z, et al:** Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science* 2020, 369:77-81.
- Ge, H., Wang, X., Yuan, X., Xiao, G., Wang, C., Deng, T., Yuan, Q., Xiao, X.,** 2020. The epidemiology and clinical information about COVID-19. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 39, 1011–1019.
- Ghanem N, Girodon E, Vidaud M, et al.** A comprehensive scanning method for rapid detection of beta-globin gene mutations and polymorphisms. *Hum Mutat.* 1992;1(3):229–39
- Korber, B., Fischer, W.M., Gnanakaran, S., Yoon, H., Theiler, J., Abfalterer, W., Hengartner, N., Giorgi, E.E., Bhattacharya, T., Foley, B., et al.** (2020). Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell* 182,812–827.e19.
- Hodcroft, E. B., Domman, D. B., Snyder, D. J., et al.** Emergence in late 2020 of multiple lineages of SARS-CoV-2 Spike protein variants affecting amino acid position 677. *medRxiv* . 2021. p. 10.1101/2021.02.12.21251658.
- Hoffmann, M. et al.** SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 181, 271–280 (2020).

**Hsieh CL, Goldsmith JA, Schaub JM, DiVenere AM, Kuo HC, Javanmardi K, Le KC, Wrapp D, Lee AG, Liu Y, et al.** Structure-based design of prefusion-stabilized SARS-CoV-2 spikes. *Science* 2020, 369:1501-1505

**Hu, D. et al.** Genomic characterization and infectivity of a novel SARS-like coronavirus in Chinese bats. *Emerg. Microbes Infect.* **7**, 154 (2018).

**Huang, C. et al.** Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* **395**, 497–506 (2020).

**Hui Wang, Yuntao Zhang, Baoying Huang, Wei Deng, Yaru Quan, Wenling Wang, Wenbo Xu, Yuxiu Zhao, Na Li, Jin Zhang, Hongyang Liang, Linlin Bao, Yanfeng Xu, Ling Ding, Weimin Zhou, Hong Gao, Jiangning Liu, Peihua Niu, Li Zhao, Wei Zhen, Hui Fu, Shouzhi Yu, Zhengli Zhang, Guangxue Xu, Changgui Li, Zhiyong Lou, Miao Xu, Chuan Qin, Guizhen Wu, George Fu Gao, Wenjie Tan, and Xiaoming Yang** : Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CorV, with Potent Protection against SARS-CoV-2. *Cell* 2020, 182:713-721

**J. Guarner**, Three emerging coronaviruses in two decades: the story of SARS, MERS, and now COVID-19, *Am. J. Clin. Pathol.* **153** (2020) 420–421, <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqaa029>

**James Brett Case, Paul W. Rothlauf, Rita E. Chen, Natasha M. Kafai, Julie M. Fox, Brittany K. Smith, Swathi Shrihari, Broc T. McCune, Ian B. Harvey, Shamus P. Keeler, Louis-Marie Bloyet, Haiyan Zhao, Meisheng Ma, Lucas J. Adams, Emma S. Winkler, Michael J. Holtzman, Daved H. Fremont, Sean P.J. Whelan, and Michael S. Diamond** : Replication-Competent Vesicular Stomatitis Virus Vaccine Vector Protects against SARS-CoV-2-Mediated Pathogenesis in Mice. *Cell Host & Microbe* 2020, **28** :465–474

**Kanne, J. P. & Chest, C. T.** Findings in 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections from Wuhan, China: key points for the radiologist. *Radiology* **295**, 16–17 (2020).

**Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD.** MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Brief. Bioinform.* 2017;20(4):1160-1166.

**Keech C, Albert G, Cho I, Robertson A, Reed P, Neal S, Plested JS, Zhu M, Cloney-Clark S, Zhou H, et al.** Phase 1-2 Trial of a SARS-CoV-2 Recombinant Spike Protein Nanoparticle Vaccine. *N Engl J Med* 2020, **383**:2320-2332

**Kuraku S, Zmasek CM, Nishimura O, Katoh K.** a Leaves facilitates on-demand exploration of metazoan gene family trees on MAFFT sequence alignment server with enhanced interactivity. *Nucleic Acids Res.* 2013;41(W1):W22-W28

**Lau, S. K. P. et al.** Possible bat origin of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Emerg. Infect. Dis.* **26**, 1542–1547 (2020).

**Lemaire D, Barbosa T, Rihet P.** Coping with genetic diversity: the contribution of pathogen and human genomics to modern vaccinology. *Braz J Med Biol Res* 2012, **45**:376-385.



**Lizhou Zhang, Cody B. Jackson , Huihui Mou, Amrita Ojha, Haiyong Peng , Brian D. Quinlan, Erumbi S. Rangarajan, Andi Pan, Abigail Vanderheiden, Mehul S. Suthar, Wenhui Li , Tina Izard , Christoph Rader , Michael Farzan & Hyeryun Choe .** SARS-CoV-2 spike-protein D614G mutation increases virion spike density and infectivity *NATURE COMMUNICATIONS* | (2020)11:6013

**Lu, R. et al.** Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* **395**, 565–574 (2020).

**Lukassen, S. et al.** SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. *EMBO. J.* **39**, e105114 (2020).

**Mahdieh N, Rabbani B, Wiley S, et al.** Genetic causes of nonsyndromic hearing loss in Iran in comparison with other populations. *J Hum Genet.* 2010;55:639–48

**Martin, M. A., VanInsberghe, D., Koelle, K.** Insights from SARS-CoV-2 sequences. *Science.* 2021. 371(6528): pp. 466-7.

**Madhi, S. A., Baillie, V., Cutland, C. L., et al.** Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) Covid-19 vaccine against the B.1.351 variant in South Africa. medRxiv. 2021. p. 10.1101/2021.02.10.21251247

**Mehta, P. et al.** COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet* **395**, 1033–1034 (2020)

**Miner, B. E., Thomas, M. K.** Covid Variant Tracking Project: tracking the spread of alarming Covid variants. Tableau Public. 2021

**Nagy A, Alhatlani B:** An overview of current COVID-19 vaccine platforms. *Comput Struct Biotechnol J.* 2021, 19:2508-2517

**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.* 2021; Available from: <https://virological.org/t/phylogenetic-relationship-of-sars-cov-2-sequences-from-amazonas-with-emerging-brazilian-variants-harboring-mutations-e484k-and-n501y-in-the-spike-protein/585>

**Network for Genomic Surveillance in South Africa. KRISP. 2021; Available from:** <https://www.krisp.org.za/ngs-sa/nga-sa-network-members-nhls-nicd-uct-ukzn-h3abionet-and-others/>.

**Ou, X. et al.** Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. *Nat. Commun.* 11, 1620 (2020).

**Organisation mondiale de la santé.** 2021 SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions consulté le 14-8-2021 disponible sur : <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019ncov/variants/variant-info.html#Concern>

**Paraskevis, D. et al.** Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. *Infect. Genet. Evol.* **79**, 104212 (2020).

**PHE statement on Variant of Concern and new Variant Under Investigation.** Public Health England. 2021; Available from: <https://www.gov.uk/government/news/phe-statement-on-variant-of-concern-and-new-variant-under-investigation>.

Rapid Risk Assessment: Detection of new SARS-CoV-2 variants related to mink. **European Centre for Disease Prevention and Control.** 2020

**Rauch S, Jasny E, Schmidt KE, Petsch B:** New Vaccine Technologies to Combat Outbreak Situations. *Front Immunol* 2018, 9:1963

**Rabbani B, Mahdiah N, Haghi Ashtiani MT, et al.** In silico structural, functional and pathogenicity evaluation of a novel mutation: An overview of HSD3B2 gene mutations. *Gene.* 2012;503(2):215–21

**Rodrigues AF, Soares HR, Guerreiro MR, Alves PM, Coroadinha AS:** Viral vaccines and their manufacturing cell substrates: New trends and designs in modern vaccinology. *Biotechnol J* 2015, 10:1329-1344.

**Sekizuka T, Itokawa K, Kageyama T, Saito S, Takayama I, Asanuma H, et al.** Haplotype networks of SARS-CoV-2 infections in the Diamond Princess cruise ship outbreak. medRxiv. 2020;. <https://doi.org/10.1073/pnas.2006824117> PMID: 32723824

**Shang, J. et al.** Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature* **581**, 221–224 (2020) Walls, A. C. et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell* **181**, 281–292 (2020).

**Shi, J. et al.** Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science* **368**, 1016–1020 (2020).

**Schrijver I, Liu W, Odom R, et al.** Premature termination mutations in FBN1: Distinct effects on differential allelic expression and on protein and clinical phenotypes. *Am J Hum Genet.* 2002;71(2):223–37

**Sungnak, W. et al.** SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat. Med.* 26, 681–687 (2020).

**The COVID-19 UK Genomics Consortium COG-UK.** 2021; Available from: <https://www.cogconsortium.uk/>.

- Tang X, Wu C, Li X, Song Y, Yao X, Wu X, et al.** On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review*. 2020;. <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa036>
- Tomori O, Kolawole MO: Ebola virus disease: current vaccine solutions. *Curr Opin Immunol* 2021,**71**:27-33.
- Volz, E., Mishra, S., Chand, M., et al.** Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 in England: Insights from linking epidemiological and genetic data. *medRxiv*. 2021. p. 10.1101/2020.12.30.20249034
- Wan, Y., Shang, J., Graham, R., Baric, R. S. & Li, F.** Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. *J. Virol.* **94**, e00127-20 (2020).
- Wang C, Liu Z, Chen Z, Huang X, Xu M, He T, et al.** The establishment of reference sequence for SARS-CoV-2 and variation analysis. *Journal of Medical Virology*. 2020; n/a(n/a). <https://doi.org/10.1002/jmv.25762> PMID: 32167180
- Wang M, Li M, Ren R, Brave A, Werf Svd, Chen EQ, et al.** International expansion of a novel SARSCoV-2 mutant. *medRxiv*. 2020;. <https://doi.org/10.1128/JVI.00567-20> PMID: 32269121
- WHO:** COVID-19 vaccine tracker and landscape.  
<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>  
(accessed 27 July 2021).
- WHO:** Status of COVID-19 Vaccines within WHO EUL/PQ evaluation process.  
[https://extranet.who.int/pqweb/sites/default/files/documents/Status\\_COVID\\_VAX\\_29June2021.pdf](https://extranet.who.int/pqweb/sites/default/files/documents/Status_COVID_VAX_29June2021.pdf)  
(accessed 25 July 2021).
- Wrapp, D. et al.** Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science* **367**, 1260–1263 (2020).
- Wu, C. et al.** Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with Coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. *JAMA Intern. Med.* 180, 934–943 (2020).
- Y.R. Guo, Q.D. Cao, Z.S. Hong, Y.Y. Tan, S.D. Chen, H.J. Jin, K. Sen Tan, D.Y. Wang, Y. Yan,** The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak- an update on the status, *Mil. Med. Res.* 7(2020) 1–10,  
<https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>.
- Yuan, Y. et al.** Cryo-EM structures of MERS-CoV and SARS-CoV spike glycoproteins reveal the dynamic receptor binding domains. *Nat. Commun.* **8**, 15092 (2017).

**Yen-Der Li, Wei-Yu Chi, Jun-Han Su** , Louise Ferrall , Chien-Fu Hung and T.-C. Wu. Coronavirus vaccine development: from SARS and MERS to COVID-19 1. *J Biomed Sci* (2020) 27:104.

**Yao, X. H. et al.** A pathological report of three COVID-19 cases by minimal invasive autopsies. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* **49**, 411–417 (2020).

**Ze-Jun Wang , Hua-Jun Zhang , Jia Lu , Kang-Wei Xu , Cheng Peng , JingGuo , Xiao-Xiao Gao , Xin Wan , Wen-Hui Wang , Chao Shan , Su-Cai Zhang , Jie Wu , An-Na Yang , Yan Zhu , Ao Xiao , Lei Zhang , Lie Fu , Hao-Rui Si , Qian Cai , Xing-Lou Yang , Lei You , Yan-Ping Zhou , Jing Liu , De-Qing Pang , Wei-Ping Jin , Xiao-Yu Zhang , Sheng-Li Meng , Yun-Xia Sun , Ulrich Desselberger , Jun-Zhi Wang , Xin-Guo Li , Kai Duan , Chang-Gui Li , Miao Xu , Zheng-Li Shi , Zhi-Ming Yuan , Xiao-Ming Yang & Shuo Shen** : Low Toxicity and High Immunogenicity of an Inactivated Vaccine Candidate against COVID-19 in different animal models, *Emerging Microbes & Infections*, *Emerging Microbes & Infections* 2020,9 :2606-2618

**Zhang, Y. Z. & Holmes, E. C.** A genomic perspective on the origin and emergence of SARS-CoV-2. *Cell* 181, 223–227 (2020).

**Zhang, W., Davis, B. D., Chen, S. S., et al.** Emergence of a Novel SARS-CoV-2 Variant in Southern California. *JAMA*. 2021. p. 10.1001/jama.2021.1612.

**Zhao, X. et al.** Broad and differential animal angiotensin-converting enzyme 2 receptor usage by SARS-CoV-2. *J. Virol.* **94**, e00940-20 (2020).

**Zhou, P. et al.** A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* **579**, 270–273 (2020)

**Zhou, H. et al.** A novel bat coronavirus closely related to SARS-CoV-2 contains natural insertions at the S1/S2 cleavage site of the spike protein. *Curr. Biol.* **30**, 2196–2203 (2020).

## Résumé

Ce travail vise à faire un aperçu sur le virus SARS-covid-2 ; faire une description moléculaire de sa structure avant et après l'apparition des mutations et discuter des différentes technologies de vaccin élaborées. La membrane du virus est composée de 4 protéines structurelles : protéine de pointe (S), enveloppe (E), membrane (M) et protéines de noyau (N). La protéine de pointe (s) se lie à ACE2 qui fait un point d'entrée vers la cellule hôte, donc le point de départ de l'infection. Habituellement, les génomes viraux sont mutés et donnent ce qu'on appelle des variantes. Pour comprendre les origines de ces variantes, leurs génomes ont été séquencés et alignés pour repérer les mutations. Plus de 674 mutations d'acides aminés ont été trouvées dans toutes les régions du génome. Avec la propagation rapide du SARS-covid 2 dans le monde, des efforts massifs ont été déployés pour trouver des vaccins sûrs et efficaces.

**Mots clés :** SARS-covid-2, mutations, variantes, protéines structurelles, génome, vaccins

**ABSTRACT**

This work aims to provide an overview on the SARS-covid-2 virus; make a molecular description of its structure before and after the appearance of mutations and discuss the different vaccine technologies developed. The virus membrane is made up of 4 structural proteins: spike protein (S), envelope (E), membrane (M) and core proteins (N). The spike protein (s) binds to ACE2 which makes an entry point to the host cell, hence the starting point of infection. Usually the viral genomes are mutated and give what are called variants. To understand the origins of these variants, their genomes have been sequenced and aligned to spot mutations. Over 674 amino acid mutations have been found in all regions of the genome. With the rapid spread of SARS-covid 2 around the world, massive efforts have been made to find vaccines that are safe and effective.

**Keywords:** SARS-covid-2, mutations, variants, structural proteins, genome, vaccines

## الملخص

يهدف هذا العمل إلى تقديم لمحة عامة عن الفيروس سارس كوفيد 2 ؛ قم بعمل وصف جزئي لهيكلها قبل وبعد ظهور الطفرات ومناقشة تقنيات اللقاح المختلفة التي تم تطويرها. يتكون غشاء الفيروس من 4 بروتينات هيكلية: بروتين سبايك (س) ، مغلف (هـ) ، غشاء (م) وبروتينات أساسية (ن). يرتبط بروتين السنبل الذي يجعل نقطة دخول الخلية المضيفة ، ومن ثم نقطة انطلاق العدوى. عادة ما يتم تحور الجينومات الفيروسية وتعطي ما يسمى بالمتغيرات. لفهم أصول هذه المتغيرات ، تم تسلسل جينوماتها ومواءمتها لتحديد الطفرات. تم العثور على أكثر من 674 طفرة في الأحماض الأمينية في جميع مناطق الجينوم. مع الانتشار السريع في جميع أنحاء العالم ، تم بذل جهود جبارة لإيجاد لقاحات آمنة وفعالة.

**الكلمات المفتاحية:** سارس كوفيد 2 الطفرات ، المتغيرات ، البروتينات الهيكلية ، الجينوم ، اللقاحات



## **Etude sur les variants du Sars-CoV-2**



**Résumé :** Ce travail vise à faire un aperçu sur le virus SARS-covid-2 ; faire une description moléculaire de sa structure avant et après l'apparition des mutations et discuter des différentes technologies de vaccin élaborées. La membrane du virus est composée de 4 protéines structurales : protéine de pointe (S), enveloppe (E), membrane (M) et protéines de noyau (N). La protéine de pointe (s) se lie à ACE2 qui fait un point d'entrée vers la cellule hôte, donc le point de départ de l'infection. Habituellement, les génomes viraux sont mutés et donnent ce qu'on appelle des variantes. Pour comprendre les origines de ces variantes, leurs génomes ont été séquencés et alignés pour repérer les mutations. Plus de 674 mutations d'acides aminés ont été trouvées dans toutes les régions du génome. Avec la propagation rapide du SARS-covid 2 dans le monde, des efforts massifs ont été déployés pour trouver des vaccins sûrs et efficaces.

**Mots clés :** SARS-covid-2, mutations, variantes, protéines structurales, génome, vaccins

### **Jury d'évaluation :**

Président ; Mr Chehili Hamza

*MCB UFMC*

Encadreur : Mr Temagoult Mahmoud

*MAA UFMC 1*

Examineur : Kellou Kamel

*MAA UFMC 1*

*Année universitaire :2020/2021*



