ADVERTISEMENT
Register for free email alerts from our new Open Access journal, *The Lancet Healthy Longevity.*
The best science for better lives

DOCUMENT DE RECHERCHE | TOME 68 , 103410 ,01 JUIN 2021

PDF [2 Mo] Les figures Sauvegarder Partager

adaptatives robustes quelle que soit la gravité de la maladie

Stine SF Nielsen • Ligne K Vibholm • Ida Monrad • Rikke Olesen • Giacomo S Frattari • Marie H Pahus • et al.
Afficher tous les auteurs

Accès Libre • Publié: 04 juin 2021 • DOI : https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103410 • Check for updates • Métriques PlumX

Abstrait
Mots clés
introduction
Méthodes

Informations pour les auteurs

Abstrait

Arrière-plan

La pandémie de SARS-CoV-2 sévit actuellement dans le monde entier. Pour comprendre la signature immunologique des infections par le SRAS-CoV-2 et faciliter la recherche et l'évaluation de CoV-2 est nécessaire.

Méthodes

Nous avons inclus 203 récupéré le SRAS-CoV-2 patients infectés au Danemark entre Avril 3 ^{e} et 9 Juillet ^{e} 2020, au moins 14 jours après la récupération des symptômes Covid-19. Les participants avaient connu une gamme de sévérités de la maladie d'asymptomatique à sévère. Nous avons collecté du plasma, du sérum et des PBMC pour l'analyse de la réponse en anticorps spécifiques du SRAS-CoV-2 par analyse à l'échelle méso, y compris d'autres souches de coronavirus, la compétition ACE2, l'IgA ELISA, la capacité de neutralisation des pseudovirus et l'analyse par cytométrie de flux de dextramère des cellules CD8 $^{+}$ T. Les résultats immunologiques ont été comparés entre les groupes de gravité au sein de la cohorte et 10 témoins négatifs pré-pandémiques pour le SRAS-CoV-2.

Résultats

Nous rapportons de larges profils sérologiques au sein de la cohorte, détectant la liaison d'anticorps à d'autres coronavirus humains. 202 (> 99%) participants avaient des anticorps spécifiques au SRAS-CoV-2, avec une neutralisation du SRAS-CoV-2 et un blocage de l'interaction pointe-récepteur ACE2 observés chez 193 (95 %) individus. Une corrélation positive significative (r = 0,7804) entre les titres d'anticorps bloquant le pic-ACE2 et la puissance de neutralisation a été observée. De plus, les réponses des lymphocytes T CD8 $^{+}$ spécifiques au SRAS-CoV-2 étaient claires et quantifiables chez 95 des 106 (90%) individus HLA-A2 $^{+}$.

Interprétation

La protéine de pointe de surface virale a été identifiée comme la cible dominante à la fois pour les anticorps neutralisants et les réponses des lymphocytes T CD8 $^{+}$. Dans l'ensemble, la majorité des patients présentaient des réponses immunitaires adaptatives robustes, quelle que soit la gravité de leur maladie.

Financement

Cette étude a été soutenue par le ministère danois de la Recherche et de l'Éducation (subvention n° 0238-0001B) et le Fonds danois pour l'innovation (subvention n° 0208-00018B)

Mots clés

SRAS-CoV-2 • COVID-19 [feminine • Anticorps • Cellule T CD8+ • Réponse immunitaire • Adaptatif • Asymptomatique • Sévère • Couronne • Virus

-

Recherche en contexte

Preuve avant cette étude

Le SRAS-CoV-2 peut provoquer des infections graves et mortelles. Cependant, notre compréhension immunologique de cette nouvelle infection virale est limitée, avec des rapports se concentrant largement sur des cohortes de gravité de la maladie, d'âges, de comorbidités, etc. Récemment, plusieurs vaccins ont été développés pour aider à limiter la transmission et à prévenir la pandémie actuelle. Pour comprendre les propriétés protectrices de la réponse immunitaire développée lors des infections primaires et pour éclairer le développement et l'évaluation des vaccins, une compréhension de base de la réponse immunitaire adaptative développée lors des infections primaires par le SRAS-CoV-2 est nécessaire.

Valeur ajoutée de cette étude

Dans ce contexte, nous avons étudié la réponse immunitaire adaptative développée lors des infections par le SRAS-CoV-2 chez 203 patients guéris présentant un spectre complet de gravité de la maladie, des infections asymptomatiques aux cas graves nécessitant une hospitalisation. L'analyse de la capacité de liaison et de neutralisation des anticorps participants, ainsi que des réponses des lymphocytes T CD8^{+} , vers plusieurs épitopes du SRAS-CoV-2, fournit une large caractérisation de la réponse adaptée lors de l'infection virale primaire. Nous avons constaté que la grande majorité des individus récupérés ont des réponses immunitaires adaptatives spécifiques au pic du SRAS-CoV-2 clairement détectables et fonctionnelles, malgré diverses sévérités de la maladie.

Implications de toutes les preuves disponibles

La détection d'une réponse immunitaire spécifique à la fois à un pic fonctionnel humoral et cellulaire chez la grande majorité des individus, indépendamment des manifestations asymptomatiques, suggère et encourage une exploration plus approfondie de la question de savoir si les infections primaires protègent contre la réinfection. En outre, le nouveau test sérologique multiplex à l'échelle méso et la coloration au dextramère des lymphocytes T appliqués ici se sont avérés des outils puissants pour les futures

évaluations de l'efficacité du vaccin.

1. Présentation

L'année 2020 a été profondément marquée par l'épidémie du syndrome respiratoire aigu sévère Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) [[1]]. Signalée en Chine en décembre 2019, l'épidémie a été officiellement déclarée pandémie par l'OMS en mars 2020 [[2]]. Avec des millions de cas confirmés dans 200 pays, le virus a fait plus de 2,4 millions de morts [[3]]. L'épidémie de SRAS-CoV-2 est une crise sanitaire en cours, qui affecte largement presque tous les aspects de la société humaine mondiale. Un aspect important de la réplication du SRAS-CoV-2 est la liaison et l'infection de la cellule hôte. Le domaine de liaison au récepteur de la protéine de pointe virale (RBD) interagit avec l'enzyme de conversion de l'angiotensine 2 (ACE2), présente à la surface cellulaire, médiant ainsi l'infection virale [[4],[5]]. Les symptômes de la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) se manifestent principalement par une maladie respiratoire, avec des complications émergentes de plusieurs organes en cas de maladie grave [[6]]. Alors que les efforts convergent à l'échelle mondiale pour développer, distribuer et évaluer un vaccin efficace [7, 8, 9, dix, 11, 12, 13], notre compréhension de base plus large de la réponse immunitaire adaptative au SRAS-CoV-2 est encore limitée.

Plusieurs études ont décrit les réponses immunitaires adaptatives générales contre le SRAS-CoV-2, montrant que les cellules B et T spécifiques du SARS-CoV-2 sont générées pendant les infections. La première immunoglobuline (Ig) M et plus tard les anticorps spécifiques du pic IgG SARS-CoV-2 sont facilement détectés chez les patients COVID-19 [14, 15, 16, 17]. Les évaluations par des tests de neutralisation ont confirmé la capacité des anticorps générés à prévenir les infections virales *in vitro* [18, 19, 20]. Le nombre limité de cas confirmés souffrant de réinfections après la guérison [21, 22, 23, 24], et un degré élevé d'immunité protectrice contre le re-challenge viral montré *in vivo* dans des études de provocation de macaques [[25]], suggèrent que la réponse immunologique développée au cours des infections primaires offre au moins une certaine protection contre la réinfection. De plus, l'activation des cellules T spécifiques du SRAS-CoV-2 a également été documentée dans une série d'études [26, 27, 28]. Cependant, de nombreuses études sont limitées à des populations spécifiques de gravité de la maladie et à de petites ou aucune cohorte vérifiée par RT-PCR.

Actuellement, une caractérisation approfondie de la réponse immunitaire adaptative au SRAS-CoV-2 dans de grandes cohortes représentant l'ensemble du spectre de la maladie, ainsi que le développement de tests sérologiques fonctionnels et facilement évolutifs, sont nécessaires pour guider et soutenir le développement rapide de vaccins et évaluation de l'efficacité. Ici, nous avons délimité les réponses immunitaires humorales et cellulaires chez 203 patients SARS-CoV-2 vérifiés par RT-PCR et récupérés. Nous avons évalué la quantité et la puissance des anticorps chez chaque individu contre plusieurs coronavirus et antigènes différents, en utilisant à la fois un test de neutralisation du pseudovirus à pointe SARS-CoV-2 et une nouvelle plate-forme multiplex Meso Scale Diagnostics (MSD) [[29]]. Nous avons en outre quantifié l'étendue et l'ampleur des cellules CD8$^+$ T spécifiques au SRAS-CoV-2 à épitope unique , à l'aide de la cytométrie en flux de dextramère. Ainsi, nous rapportons un vaste panel de paramètres immunitaires adaptatifs dans le contexte de la gravité de la maladie, pour fournir un aperçu de la réponse immunitaire adaptative générale et fonctionnelle spécifique au SRAS-CoV-2 observée dans tout le spectre de la maladie COVID-19.

2. Méthodes

2.1 Conception de l'étude et prélèvement d'échantillons

Des échantillons ont été prélevés sur une cohorte de 203 personnes qui s'étaient remises de COVID-19. Les participants se sont inscrits au département des maladies infectieuses à l' hôpital universitaire d' Aarhus, au Danemark d'Avril 3 ème au 9 Juillet e2020. Les critères d'inclusion étaient les suivants ; 1) Âge supérieur à 18 ans ; 2) SARS-CoV-2 vérifié par PCR au cours des 12 semaines précédentes ; 3) Récupération complète d'une maladie COVID-19 aiguë ; 4) Capable de donner un consentement éclairé. Les critères d'exclusion étaient ; 1) Maladie fébrile persistante ; 2) Traitement immunosuppresseur et/ou immunodéficience connue ; 3) Grossesse. 301 personnes ont été invitées à participer à l'étude, dont 203 ont répondu. Les 203 répondeurs répondaient aux critères de l'étude et ont été inclus. Les échantillons ont été prélevés au moins 14 jours après la récupération et au maximum 12 semaines après le diagnostic vérifié par PCR du SRAS-CoV-2. Un patient ID116 n'a eu que du sérum collecté, et est donc absent de la neutralisation plasmatique et des analyses des lymphocytes T.

Les individus ont été répartis en trois groupes en fonction de la gravité de la maladie COVID-19, sur la base des critères : 1) À domicile/ambulatoire, ne connaissant aucune limitation dans les activités quotidiennes ; 2) Domicile/ambulatoire, certaines limitations du niveau d'activité quotidienne (fièvre, alité pendant la maladie); 3) Tous les patients hospitalisés, qu'ils aient besoin d'un traitement d'appoint à l'oxygène ou qu'ils soient admis en unité de soins intensifs avec/sans ventilation mécanique. Des données supplémentaires concernant les caractéristiques démographiques et cliniques de cette cohorte ont été rapportées ailleurs [[30]].

2.2 Éthique

Chaque participant a fourni un consentement écrit éclairé avant toute activité de l'étude. L'étude a été approuvée par le Comité national d'éthique de la santé (#1-10-72-76-20) et l'Agence danoise de protection des données (numéro de dossier non applicable)

2.3 Sérologie

Les anticorps IgG ont été mesurés dans des échantillons de sérum à l'aide du MSD Coronavirus Plate 1 (Cat. No. N05357A-1, Meso Scale Diagnostics, Rockville, Maryland), un dosage immunologique multiplex en phase solide, avec 10 spots d'antigène pré-enduits dans un format de 96 puits , avec un système de détection basé sur l'électrochimiluminescence. Les antigènes liés au SRAS-CoV-2 repérés étaient le CoV-2 Spike, le CoV-2 RBD, le CoV-2 NTD et la nucléocapside CoV-2. Les taches restantes comprenaient des antigènes d'autres agents pathogènes respiratoires: la protéine de pointe du SRAS-CoV-1, le coronavirus MERS et deux coronavirus saisonniers OC43, HKU1. La BSA a servi de contrôle négatif, comme décrit précédemment [[29]]. La liaison d'anticorps non spécifique a été bloquée en utilisant MSD Blocker A (Cat. No. R93AA-1). Les échantillons de sérum de patient COVID-19 et les échantillons de contrôle ont été dilués à 1:4630 dans le diluant MSD 100 (Cat. No. R50AA-3). Après incubation de l'échantillon, les IgG liées ont été détectées par incubation avec l'anticorps anti-IgG humain MSD SULFO-TAG et ensuite mesurées sur un lecteur MESO QuickPlex SQ 120 (Cat. No. AI0AA-0) après addition de GOLD Read Buffer B (Cat. No. R60AM-2).

2.4 Test de compétition ACE2

Les anticorps ciblant les pointes et les RBD capables de rivaliser avec la liaison ACE2 ont été mesurés à l'aide de la plaque MSD Coronavirus 1 comme ci-dessus. Un calibrateur d'anticorps bloquant COVID-19 et des échantillons de sérum de patient et de contrôle dilués à 1:10 ont été incubés après le blocage de la plaque. L'ACE2 conjuguée au SULFO-Tag a été ajoutée avant le lavage, permettant à l'ACE2 d'entrer en compétition avec l'anticorps se liant aux antigènes de pointe et RBD immobilisés sur la plaque. L'ACE2 lié a été détecté comme décrit pour le test sérologique ci-dessus, et les concentrations d'anticorps ont ensuite été calculées à l'aide du logiciel MSD Discovery Workbench.

2.5 ELISA

Les anticorps IgA ont été mesurés à l'aide de l'Anti-SARS-CoV-2 IgA ELISA d'Euroimmun [[31]] (Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck, Allemagne, Cat. No. EI 2606-9601 A), selon les instructions du fabricant. En bref, des anticorps dans des échantillons de sérum dilués au 1:200 ont été capturés par le domaine S1 recombinant de la protéine de pointe SARS-CoV-2 immobilisée dans des puits de microplaque. Les anticorps de type IgA ont été détectés par incubation avec des IgA anti-humaines marquées à la peroxydase suivies d'une solution de chromogène, ce qui a entraîné un développement de la couleur dans les puits positifs. Le signal a été lu à 450 nm avec des mesures de référence à 650 nm, qui ont été utilisées pour les corrections du signal de fond. Les résultats ont été analysés par rapport au calibrateur du kit ELISA, en tant que rapport entre l'absorbance de l'échantillon et l'absorbance du calibrateur.

2.6 Cellules et plasmides

Toutes les lignées cellulaires ont été incubées à 37 ° C et 5% de CO_2 dans une atmosphère humidifiée. Cellules BHK-G43, précédemment décrites et aimablement fournies par M. Hoffmann et S. Pöhlmann [[32],[33]], ont été cultivés dans du milieu Dulbecco modifié Eagle (DMEM) (Biowest VWR Cat n° L0101-500), contenant 5 % de sérum bovin fœtal (FBS) (code de produit Biowest : S181H-500) et 50 U/mL de pénicilline G/streptomycine (P/S) (Biowest, code produit : L0022-100) où Zeocin (100µg/ml)(Invivogen cat.code : ant-zn-1) et Hygromycine (50µg/ml)(Corning, Fisher Scientific code produit : 15313681) ont été ajoutés à chaque quatrième passage. L'induction de la glycoprotéine VSV-G a été réalisée avec 10^{-8} M de mifépristone (Merck n° cat . M80-46) . Les cellules HEK293T (RPID:CVCL_0063) ont été cultivées dans du DMEM, contenant 10 % de FBS et 50 U/mL de P/S. Cellules Vero76 cmyc hTMPRSS2 aimablement fournies par M. Hoffmann et S. Pöhlmann [[4]] ont été cultivés dans du DMEM additionné de 10 % de FBS, 50 U/mL P/S et 10 g/mL de Blasticidine (Gibco, REF : A1113903).

La construction de pCG1-SARS-2-Spike a été précédemment décrite et a été aimablement fournie par M. Hoffmann et S. Pöhlmann [[4],[34]]. En bref, le SRAS-2-S de la séquence codante de l'isolat Wuhan-Hu-1 (NCBI Ref.Seq: YP_009724390.1) a été amplifié par PCR et cloné dans le vecteur d'expression pCG1 via BamHI (ThermoFisher Cat.no: ER0051) et XbaI (ThermoFisher Cat.no : ER0685) sites de restriction.

2.7 Production de virus

Pour la génération de particules VSV*ΔG(luc)-G, les cellules BHK-G43 ont été ensemencées au jour 1 pour atteindre une confluence de 70 à 80 % au jour 2, où la mifépristone (10^{-8} M) a été ajoutée pour induire la transcription de la glycoprotéine G Après 6 heures, le milieu a été remplacé par du DMEM frais contenant 5 % de FBS, 50 U/mL de P/S et VSV*VG(luc) (aimablement fourni par M. Hoffmann et S. Pöhlman [[32]]) à MOI = 0,3. Après 1 heure d'incubation à 37°C, les cellules BHK-G43 ont été lavées trois fois dans du PBS et du milieu frais a été ajouté. Les cellules ont été incubées pendant 24 heures, après quoi le surnageant a été centrifugé à 2000 xg pendant 10 minutes à température ambiante pour former un culot de débris cellulaires, et stocké à -80°C.

Le pseudovirus VSV*ΔG(luc)-SARS-2-S a été produit par transfection avec pCG1-SARS-2-S suivie d'une transduction avec VSV*ΔG(luc)-G. Les cellules HEK293T ont été ensemencées dans du DMEM contenant 10 % de FBS et 50 U/mL de P/S pour atteindre 70 à 80 % de confluence le jour suivant. 2 g de plasmide ont été utilisés pour 1×10^{6}cellules et incubées avec PEI (3:1) pendant 30 min à température ambiante. Le mélange de transfection a été ajouté aux cellules et incubé pendant 18 heures à 37°C. Les cellules ont été lavées deux fois avec du PBS, transduites avec VSV*(luc)+G à MOI = 2 et incubées pendant 2 heures. Le virus a été éliminé par lavage doux deux fois avec du PBS, et du DMEM frais contenant 10 % de FBS et 50 U/ml de P/S a été ajouté. Le surnageant cellulaire a été récolté après 24 heures, centrifugé à 2000 xg pendant 10 min pour éliminer les débris cellulaires et stocké immédiatement à -80°C. Une simulation VSV*ΔG(luc) a été générée simultanément pour permettre la soustraction de tout bruit de fond restant des signaux VSV*ΔG(luc)-G.

2.8 Test de neutralisation

La capacité de neutralisation du SARS-CoV-2 du plasma a été évaluée par infection de cellules Vero76 cmyc hTMPRSS2, avec des particules de pseudovirus VSV*VG(luc)-SARS-2-S. La neutralisation a été effectuée comme suit : des échantillons de plasma ont été décongelés et inactivés à la chaleur à 56°C pendant 45 min. Par la suite, des dilutions en série au quintuple de chaque échantillon de plasma ont été réalisées dans du DMEM contenant 10 % de FBS et 50 U/mL de P/S. 25 L de chaque dilution pour tous les échantillons de plasma ont été incubés avec 50 L de VSV*ΔG(luc)-SARS-2-S à MOI = 0,01 pendant 1 heure à 37°C, dans une plaque 96 puits à fond plat. Successivement, 20 000 cellules Vero76 cmyc hTMPRSS2, dans 50 pi de DMEM contenant 10 % de FBS et 50 U/mL de P/S ont été ajoutées à chaque puits et incubées à 37°C pendant 20 heures. Les dilutions plasmatiques totales finales testées allaient de 1:25 à 1: 1953125, et ont toutes été analysées en double. Les cellules ont été préparées pour la cytométrie en flux en retirant d'abord doucement le milieu de culture et en lavant une fois avec du PBS. Deuxièmement, les suspensions cellulaires ont été faites en incubant chaque puits avec 75 µL de Trypsine avec EDTA (code de produit Biowest : X0930-100) pendant 15 min à 37°C, suivi d'une centrifugation à 500 g pendant 5 min à température ambiante, et remise en suspension dans DMEM contenant 10 % de FBS et 50 U/mL de P/S. Les cellules ont été fixées dans 1% de PFA (VWR Cat. No: AA43368-9M) pendant au moins 15 min à 4°C, avant que l'expression de l'eGFP ne soit analysée à l'aide d'un cytomètre en flux Miltenyi Biotec MACSquant16. Le signal de fond eGFP fictif VSV*ΔG(luc) a été soustrait de tous les échantillons. suivi d'une centrifugation à 500 g pendant 5 min à température ambiante, et remise en suspension dans du DMEM contenant 10 % de FBS et 50 U/mL de P/S. Les cellules ont été fixées dans 1% de PFA (VWR Cat. No: AA43368-9M) pendant au moins 15 min à 4°C, avant que l'expression de l'eGFP ne soit analysée à l'aide d'un cytomètre en flux Miltenyi Biotec MACSquant16. Le signal de fond eGFP fictif VSV*ΔG(luc) a été soustrait de tous les échantillons. suivi d'une centrifugation à 500 g pendant 5 min à température ambiante, et remise en suspension dans du DMEM contenant 10 % de FBS et 50 U/mL de P/S. Les cellules ont été fixées dans 1% de PFA (VWR Cat. No: AA43368-9M) pendant au moins 15 min à 4°C, avant que l'expression de l'eGFP ne soit analysée à l'aide d'un cytomètre en flux Miltenyi Biotec MACSquant16. Le signal de fond eGFP fictif VSV*ΔG(luc) a été soustrait de tous les échantillons.

2.9 Typage HLA-A2 et coloration au dextramère par cytométrie en flux

Pour le typage HLA-A2, 2 millions de PBMC cryoconservées ont été décongelées, colorées à température ambiante pendant 20 min avec HLA-A2 (clone BB7.2, Biolegend Cat. No. 343328) ou un contrôle isotypique correspondant (Biolegend Cat. No. 400356) et acquis sur un cytomètre en flux Fortessa à cinq lasers. Les colorations au dextramère ont ensuite été réalisées sur les échantillons HLA-A2 positifs comme suit. Les PBMC ont été incubées à température ambiante pendant 30 min avec les dextramères SARS-CoV-2 suivants (tous d'Immundex) : A*0201/TLACFVLAAV-PE (Cat. No. WB3848-PE), A*0201/GMSRIGMEV-FITC (Cat. N° WB5751-FITC), A*0201/LLLDRLNQL-APC (N° cat. WB5762-APC), A*0201/ILLNKHIDA-PE (N° cat. WB5848-PE), A*0201/RLNEVAKNL-FITC (Référence WB5750-FITC), A*0201/YLQPRTFLL-APC (Référence WB5824-APC), A*0201/VLNDILSRL-PE (Référence WB5823-PE), A*0201/NLNESLIDL-FITC (Cat. No. WB5850-FITC), A*0201/FIAGLIAIV-APC (Cat. No. WB5825-APC), A*0201/LLLNCLWSV-PE (Cat. No. WB3513-PE), ou dextramères de contrôle positif/négatif : A*0201/NLVPMVATV-PE (Cat. No. WB2132-PE, Pos. Control, CMV), A*0201 /NLVPMVATV-FITC (Cat. No. WB2132-FITC, Pos. Control, CMV), A*0201/NLVPMVATV-APC (Cat. No. WB2132-APC, Pos. Control, CMV), A*0201/Neg. Control-PE (Cat. No. WB2666-PE), A*0201/Neg. Control-FITC (Cat. No. WB2666-FITC), A*0201/Neg. Contrôle-APC (Cat. No. WB2666-APC). Les cellules ont été lavées et colorées avec un colorant de viabilité (Zombie Violet, Biolegend, Cat. No. 423114) et CD8 (Clone RPA-T8, BD, Cat. No. 563795) et acquises sur un cytomètre en flux Fortessa à cinq lasers. Contrôle, CMV), A*0201/Nég. Control-PE (Cat. No. WB2666-PE), A*0201/Neg. Control-FITC (Cat. No. WB2666-FITC), A*0201/Neg. Contrôle-APC (Cat. No. WB2666-APC). Les cellules ont été lavées et colorées avec un colorant de viabilité (Zombie Violet, Biolegend, Cat. No. 423114) et CD8 (Clone RPA-T8, BD, Cat. No. 563795) et acquises sur un cytomètre en flux Fortessa à cinq lasers. Contrôle, CMV), A*0201/Nég. Control-PE (Cat. No. WB2666-PE), A*0201/Neg. Control-FITC (Cat. No. WB2666-FITC), A*0201/Neg. Contrôle-APC (Cat. No. WB2666-APC). Les cellules ont été lavées et colorées avec un colorant de viabilité (Zombie Violet, Biolegend, Cat. No. 423114) et CD8 (Clone RPA-T8, BD, Cat. No. 563795) et acquises sur un cytomètre en flux Fortessa à cinq lasers.

2.10 Données et analyses statistiques

Les données de cytométrie en flux ont été analysées à l'aide de FlowJo (version 10.7.1). Toutes les données ont été traitées et représentées graphiquement dans GraphPad Prism version 8.4.3. Pour les tests de sérologie à l'échelle méso et de compétition ACE2, et le test ELISA IgA, le signal de chimiluminescence ou le titre d'anticorps des cohortes a été comparé à la même variable pour 10 témoins négatifs, au sein de chaque cible antigénique séparément, à l'aide d'un test de Mann-Whitney. Des tests de Mann-Whitney ont également été utilisés pour comparer les variables entre les groupes de sévérité des cohortes, en comparant chaque groupe de sévérité les uns avec les autres individuellement, dans les cas de : signal chimiluminescent vers le pic SARS-CoV-2 et la nucléocapside, neutralisation du pseudovirus du pic SARS-CoV-2 Valeurs IC50, ACE2 bloquant les anticorps SARS-CoV-2 en ng/ml et % de réponse cumulée des lymphocytes T CD8. Lancier'tableau 2 . Les courbes de neutralisation ont été tracées avec des ajustements non linéaires à trois paramètres, à partir desquels les valeurs IC50 ont été calculées. Toutes les valeurs de la carte thermique ont été normalisées à des valeurs comprises entre 1 et 0, en fonction de la valeur la plus élevée et la plus faible pour chaque variable individuelle affichée. Aucune randomisation ou mise en aveugle n'a été effectuée, car le recrutement des patients était basé sur des antécédents de diagnostic de COVID-19, la gravité de la maladie étant inconnue jusqu'au recrutement. En raison du nombre de comparaisons effectuées, les tests multiples n'ont pas été pris en compte. Aucune correction statistique n'a été apportée pour tenir compte des facteurs de confusion potentiels. p 0,05 a été interprété comme statistiquement significatif. Les valeurs p sont indiquées comme suit : ns = non significatif,* = p 0,05, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$, **** = $p < 0,0001$.

2.11 Rôle de la source de financement

Cette étude a été financée par une subvention du ministère danois de la Recherche et de l'Éducation (subvention n° 0238-00001B) et du Fonds danois pour l'innovation (subvention n° 0208-00018B). Aucune des sources de financement n'a joué de rôle dans un aspect pertinent à l'étude. L'auteur correspondant avait accès à toutes les données de l'étude et était le dernier responsable de la décision de soumission pour publication.

3. Résultats

3.1 Inscription des patients

Nous avons étudié la réponse immunitaire adaptative au SRAS-CoV-2 chez 203 patients danois qui s'étaient rétablis du COVID-19. Nous avons récemment décrit en détail les caractéristiques cliniques des cohortes [[30]] dont un aperçu de base est présenté dans le tableau 1. L'âge médian des individus était de 47 ans (extrêmes : 21 – 79) et 45 % étaient des femmes. La cohorte a été divisée en trois groupes de gravité de la maladie COVID-19. 1 : Domicile/ambulatoire sans limitation des activités quotidiennes (8 %) : 2 : Domicile/ambulatoire avec limitation des activités quotidiennes (75 %) et 3 : Patients hospitalisés (17 %). La durée médiane des symptômes du COVID-19 était de 13 jours (plage : 0 – 68). Le recrutement a eu lieu au moins 14 jours après la fin des symptômes liés au COVID-19, avec une médiane de 31 (intervalle : 14 à 61) jours entre le moment de la récupération et le recrutement dans l'étude. Pour permettre la comparaison des résultats immunologiques des patients guéris de l'infection par le SRAS-CoV-2, des échantillons de 10 individus danois en bonne santé inscrits dans une étude menée avant la pandémie actuelle de COVID-19 ont été inclus comme témoins [[35]].

Tableau 1 Caractéristiques de la cohorte.

Âge, années, médiane (plage)		47	(21-79)

Sexe féminin, non (%)		92	(45)
HLA-A2$^+$, non (%)		113	(56)
Gravité de la maladie COVID-19, non (%)			
Domicile/ambulatoire, aucune limitation des activités quotidiennes (asymptomatique/légère)		17	(8)
Domicile/ambulatoire, limitation des activités quotidiennes (modéré)		152	(75)
Hospitalisé (grave)		34	(17)
Durée des symptômes COVID-19, jours, médiane (plage)		13	(0-68)
Temps entre la récupération et l'inclusion, jour, médiane (plage)		31	(14-61)

Ouvrir le tableau dans un nouvel onglet

Tous les individus ont été affectés à un groupe de gravité COVID-19 en fonction de l'évolution de leur maladie. Le groupe 1 était composé d'individus asymptomatiques sans aucune limitation dans leurs activités quotidiennes. Groupe 2 de moyennement malades, capables de récupérer à domicile. Enfin, le groupe 3 comprend toutes les personnes hospitalisées, y compris celles avec/sans besoin d'oxygène et/ou admission en réanimation.

3.2 Sérologie du coronavirus humain

Tout d'abord, nous avons analysé la présence d'anticorps IgG dirigés contre plusieurs coronavirus humains dans le sérum, en utilisant la plateforme multiplex MSD. Par rapport aux témoins, nous avons trouvé des niveaux significativement élevés d'anticorps IgG dans le pic RBD, le domaine N-terminal du pic (NTD) et la nucléocapside ($p < 0{,}0001$, figure 1 a). De plus, les anticorps IgG d'individus infectés par le SRAS-CoV-2 ont montré une réactivité fortement accrue envers la protéine de pointe d'autres bêta-coronavirus humains : le SRAS-CoV-1 et le syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS), par rapport aux témoins négatifs. De plus, des niveaux accrus d'IgG envers les souches saisonnières de coronavirus bêta : HKU1 et OC43, par rapport aux IgG du groupe témoin ont également été observés ($p<0{,}0001$, Fig. 1b). Aucune différence n'a été détectée dans les niveaux d'IgG par rapport au contrôle négatif de l'albumine sérique bovine (BSA) entre les patients SARS-CoV-2 et les contrôles. Il est important de noter que 202 des 203 individus analysés ici ont développé des anticorps détectables, sinon absents dans les contrôles historiques, contre les antigènes SARS-CoV-2 Spike et RBD de pleine longueur, lors d'infections SARS-CoV-2. De même, une production robuste d'anticorps IgA a également été observée pour presque tous les individus infectés, les niveaux d'IgA spécifiques au pic du SRAS-CoV-2 étant significativement élevés par rapport aux témoins chez 201 des 203 individus (Fig. 1 c). De plus, les niveaux d'IgG du SRAS-CoV-2 vis-à-vis des antigènes de pointe et de la nucléocapside, étaient positivement corrélés avec la gravité de la maladie. (Fig. 1d+e). Dans l'ensemble, nous concluons que plus de 202 (99%) des individus infectés par le SRAS-CoV-2 dans cette cohorte avaient des anticorps facilement détectables contre l'antigène de pointe du SRAS-CoV-2, et qu'une large reconnaissance immunologique IgG du SRAS-CoV-2 comme ainsi que plusieurs coronavirus différents se développent pendant COVID-19. De plus, l'ampleur des anticorps ciblant les pointes augmente avec la gravité de la maladie.

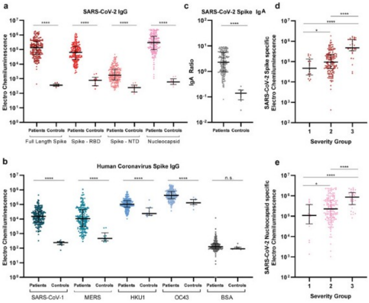

Fig. 1 Présence étendue d'IgG et d'IgA avec plusieurs antigènes du SRAS-CoV-2. a+b) Taux sériques d'IgG pour tous les individus (n=203) et 10 témoins sains pré-pandémiques. L'IgG a été détectée contre le SARS-CoV-2 Spike, RBD (domaine de liaison au récepteur), NTD (domaine N-terminal), la nucléocapside et les protéines de pointe non SARS-CoV-2 d'autres virus corona. Les données sont des signaux électrochimioluminescents corrigés à blanc mesurés par des tests sérologiques multiplex MSD. c) Taux sériques d'IgA pour tous les individus (n = 203) et huit témoins sains pré-pandémiques, mesurés par ELISA. L'IgA est indiquée sous forme de rapport par rapport à un calibrateur standard. d+e) Distribution des volumes d'IgG entre chaque groupe de gravité de la maladie, pour le pic SARS-CoV-2 (d) * = p = 0,0416 et la nucléocapside (e) * = p = 0,0271. Les données sont des signaux électrochimioluminescents corrigés à blanc mesurés par des tests sérologiques multiplex MSD. Les diagrammes de dispersion avec des points de données individuels sont affichés avec la médiane (ligne large) et l'intervalle interquartile (lignes étroites). La comparaison statistique entre les groupes a été effectuée par le test de Mann-Whitney. ns = non significatif, **** = p<0,0001.

Voir l'image en grand | Visionneuse de figures
| Télécharger l'image haute résolution | Télécharger (PPT)

3.3 Neutralisation du pseudovirus SARS-CoV-2

Ensuite, nous avons étudié la capacité de neutralisation fonctionnelle des anticorps plasmatiques totaux *in vitro, en* utilisant un virus pseudotypé VSV exprimant la protéine de pointe SARS-CoV-2. Le pouvoir neutralisant des anticorps a été évalué en appliquant des dilutions en série de plasma, produisant des courbes de titrage de l'infectivité pour chacun des individus infectés par le SRAS-CoV-2 et les témoins (Fig. 2une). Nous avons constaté que 95,5% des individus (193 sur 202) étaient capables de neutraliser les pseudovirus à pointe SARS-CoV-2 avec une inhibition de 100% à la dilution plasmatique la plus basse (1:25). Les valeurs IC50 ont été calculées à partir des courbes de neutralisation et attribuées à chaque individu en tant que mesure de la puissance de neutralisation des anticorps. Le sérum des neuf autres individus (4,5 %) n'a pas pu neutraliser complètement l'infection virale, produisant des courbes de neutralisation comparables à celles des témoins non infectés. Aucune valeur IC50 légitime n'a pu être calculée pour ces individus et, par conséquent, ils ont été exclus des analyses ultérieures utilisant ce paramètre. Collectivement, les valeurs IC50 des 193 individus neutralisants s'étendent uniformément sur quatre ordres de grandeur (Fig. 2 b). En accord avec l'analyse de la figure 1d + e, nous avons observé des valeurs IC50 inférieures chez les personnes présentant des symptômes légers par rapport à celles présentant un COVID-19 modéré (p = 0,0008) ou sévère (p < 0,0001) (Fig. 2 c). Nous concluons que dans cette grande cohorte, avec une diversité considérable de gravité de la maladie, la grande majorité (> 95 %) des infections au SRAS-CoV-2 conduisent à la production d'anticorps neutralisants efficaces, et que la puissance de neutralisation augmente avec la gravité de la maladie.

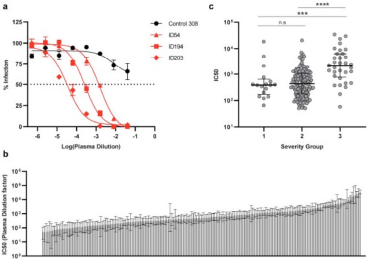

Fig. 2 La capacité de neutralisation du SARS-CoV-2 est en corrélation avec la gravité de la maladie. a) Courbes de neutralisation représentatives pour le contrôle ID308 et les individus ID54, ID194 et ID203, quantifiés en cellules eGFP $^{+}$ par cytométrie en flux. Le plasma de contrôle n'a pas pu se neutraliser en dessous d'un taux d'infection de 50 %, où les patients guéris du SRAS-CoV-2 accomplissent une neutralisation de 100 % à la dilution de plasma la plus faible. L'axe des X montre la dilution plasmatique du patient transformée en log10, de 1:25 à 1:1.953.125. Les barres d'erreur représentent la moyenne et la moyenne des déterminations en double. Un ajustement non linéaire à trois paramètres est tracé. b)Valeurs IC50 calculées à partir des courbes de neutralisation, représentées graphiquement du plus bas (gauche) au plus haut (droite) au sein de la cohorte. Les barres d'erreur indiquent un intervalle de confiance à 95 %. Neuf individus incapables de neutraliser 100 % sont représentés avec la valeur zéro sur l'axe des y à l'extrême gauche, n = 202. c) Distribution des valeurs IC50 entre les sévérités de la maladie. *** = p=0.0008. Nuage de points avec des points de données individuels indiqués avec la médiane (ligne large) et l'intervalle interquartile (lignes étroites). Les comparaisons statistiques ont été effectuées par le test de Mann-Whitney. **** = p < 0,0001, n = 193.

Voir l'image en grand | Visionneuse de figures
| Télécharger l'image haute résolution | Télécharger (PPT)

3.4 Les anticorps bloquent efficacement la liaison au récepteur ACE2

Nous avons poursuivi la caractérisation de la fonctionnalité des anticorps SARS-CoV-2, en utilisant un test de compétition MSD SARS-CoV Spike - ACE2 (Fig. 3 a). Cela nous a permis de mesurer la quantité d'anticorps capables de bloquer l'interaction entre le récepteur ACE2 et la protéine de pointe SARS-CoV-2 pleine longueur, SARS-CoV-2 RBD et la protéine de pointe SARS-CoV-1. De nombreux individus récupérés ont atteint la limite supérieure de quantification du test, et une nette augmentation des quantités d'anticorps bloquant l'ACE2 sériques a été observée pour les trois antigènes par rapport aux témoins historiques (p≤0,0001) (Fig. 3b). Les niveaux d'anticorps bloquant l'interaction SARS-CoV-2 Spike - récepteur ACE2 ont augmenté chez > 99% des individus (202 sur 203) par rapport aux témoins non infectés. Les concentrations d'anticorps individuels étaient également corrélées au temps écoulé entre la guérison de la maladie et l'inclusion (S1 Fig. 1 b). Néanmoins, nous avons constaté que les personnes souffrant de COVID-19 sévère avaient des niveaux significativement plus élevés d'anticorps bloquant l'ACE2 spécifiques au pic du SRAS-CoV-2, par rapport aux personnes atteintes d'une maladie légère à modérée ($p<0{,}0001$, Fig. 3c). Le test de neutralisation à base de cellules de pseudovirus et le test de compétition SARS-CoV Spike - ACE2 étudient tous deux la présence d'anticorps fonctionnels dirigés contre le SARS-CoV-2. Nous avons identifié une corrélation hautement significative entre les valeurs IC50 du test de neutralisation des pseudovirus et la concentration d'anticorps spécifiques au pic SARS-CoV-2 capables de bloquer l'interaction avec le récepteur ACE2 ($p> 0{,}0001$ Fig. 3 d). En conclusion, nous avons observé que presque tous les individus produisent des anticorps qui ciblent l'interaction protéine de pointe-récepteur ACE2 et que le niveau de ces anticorps augmente avec une maladie grave. En outre, la capacité de neutralisation du virus a augmenté conjointement avec la quantité d'anticorps bloquant l'ACE2 fonctionnel présent dans le sérum.

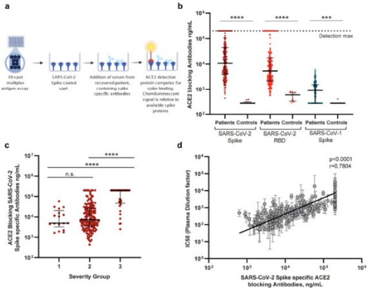

Fig. 3 **Quantification des anticorps SARS-CoV-2 par test de compétition ACE2. a) Schéma du test de compétition MSD ACE2. Les anticorps sériques spécifiques aux pointes se lient à leurs épitopes respectifs, bloquant l'ACE2 conjuguée au SULFO-Tag. La concentration d'anticorps en ng/ml est calculée sur la base d'un anticorps standard interne bloquant la liaison ACE2. b) Niveaux d'anticorps bloquant le sérum ACE2 détectés contre les protéines de pointe et RBD du SARS-CoV-2 Spike et SARS-CoV-1. *** = p=0.001. Nuage de points avec des points de données individuels indiqués avec la médiane (ligne large) et l'intervalle interquartile (lignes étroites). Comparaison statistique par test de Mann-Whitney. **** = p<0,0001, n = 203. c)Distribution des anticorps bloquants ACE2 spécifiques au pic du SRAS-CoV-2 entre les groupes de gravité de la maladie. Nuage de points avec des points de données individuels indiqués avec la médiane (ligne large) et l'intervalle interquartile (lignes étroites). Comparaison statistique par test U de Mann-Whitney. **** = p < 0,0001, n = 203. d) Analyse de corrélation des valeurs IC50 de neutralisation virale du pseudotype et de la quantité d'anticorps bloquant l'ACE2 spécifiques du pic SARS-CoV-2. Corrélation par le coefficient de rang de Spearman, p < 0,0001. n = 193.**

Voir l'image en grand | Visionneuse de figures
| Télécharger l'image haute résolution | Télécharger (PPT)

3.5 Analyse sérologique collectée

Ensuite, nous avons construit une carte thermique compilant toutes les données immunologiques humorales, pour obtenir une perspective à l'échelle de la cohorte de la réponse globale des anticorps développée pendant l'infection par le SRAS-CoV-2. Nous avons classé les individus en fonction de leur puissance de réponse en anticorps à partir du test de neutralisation des pseudovirus (valeur IC50), affichant leurs variables immunologiques respectives en dessous (Fig. 4). Nous avons observé que la capacité de neutralisation était clairement liée aux taux globaux d'anticorps présents chez les patients. Fait intéressant, il était en outre évident que les meilleurs neutralisants (les 10 % supérieurs) de la cohorte affichaient une augmentation correspondante de l'étendue globale de leur réponse en anticorps, envers tous les antigènes de coronavirus étudiés. Il est important de noter que de forts profils de neutralisation des pseudovirus ont été presque exclusivement observés chez les individus avec des anticorps qui bloquent puissamment l'interaction pointe-récepteur ACE2. Nous concluons donc que les meilleurs neutralisants présentent une plus grande variété d'anticorps et ont des niveaux plus élevés d'anticorps de liaison de pointe et de blocage des récepteurs.

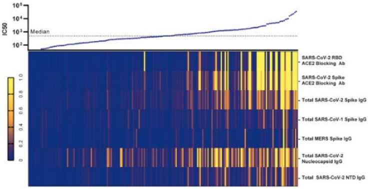

Fig. 4 L'étendue de la réponse immunologique varie en fonction de la capacité de neutralisation. Présentation de toutes les valeurs IC50 répertoriées du plus bas (gauche) au plus élevé (droite) avec une carte thermique représentant les individus correspondant aux niveaux relatifs d'IgG et aux quantités d'anticorps bloquant ACE2 collectées par analyse MSD. La normalisation des variables au sein de chaque paramètre immunologique mesuré a été effectuée en attribuant les valeurs les plus élevées à un (jaune vif) et la valeur la plus faible à zéro (bleu foncé). n=202.

Voir l'image en grand | Visionneuse de figures | Télécharger l'image haute résolution | Télécharger (PPT)

3.6 Réponses des lymphocytes T CD8+ spécifiques à l'épitope

Nous avons ensuite exploré les réponses des lymphocytes T spécifiques à l'épitope chez les individus récupérés du SRAS-CoV-2. Nous avons analysé la réactivité des cellules CD8 $^+$ T de 106 individus HLA-A2 $^+$ de la cohorte pour leur spécificité à neuf épitopes différents du SRAS-CoV-2 à l'aide de la cytométrie de flux avec coloration au dextramère (Fig. 5 a). Dans l'ensemble, la membrane $_{61-70}$ (M) (épitope 1), la nucléocapside $_{222-230}$ (N) (épitope 3) et la $_{\text{pointe }269-277}$ (S) (épitope 6) étaient les épitopes les plus couramment reconnus avec des réponses positives détectées dans 19 (17 %), 27 (25 %) et 86 (81 %) des individus, respectivement (Fig. 5 b). Fait intéressant, ces trois épitopes proviennent de trois protéines distinctes du SRAS-CoV-2 (Fig. 5une). La fréquence des cellules CD8 $^+$ T spécifiques au SRAS-CoV-2 était similaire dans les neuf épitopes HLA-A2 $^+$ testés, avec les réponses individuelles les plus élevées observées pour N $_{222-230}$ et S $_{269-277}$ (épitopes 3 et 6) (Fig. . 5 c). Seuls 10 % des individus HLA-A2 $^+$ (11 sur 106) n'ont eu de réponse détectable à aucun des épitopes testés, tandis que les 90 % restants ont répondu à au moins un, et jusqu'à sept, des épitopes analysés. (Fig. 5d). Nous avons comparé la fréquence cumulée des cellules CD8 $^{+}$ T spécifiques du SRAS-CoV-2 dans les groupes de gravité de la maladie et n'avons observé aucune différence significative (Fig. 5e). Cependant, nous avons observé des corrélations significatives mais faibles entre la fréquence cumulée des cellules CD8 $^{+}$ T spécifiques du SRAS-CoV-2 et la majorité des paramètres immunologiques sérologiques analysés, y compris les valeurs IC50 de neutralisation des pseudovirus ainsi que les anticorps spécifiques du SRAS-CoV-2. production et capacité de blocage ACE2, comme indiqué avec les coefficients de corrélation dans le tableau 2 . De plus, la fréquence cumulative individuelle des cellules CD8 $^{+}$ T spécifiques du SRAS-CoV-2 était également corrélée au temps écoulé entre la guérison de la maladie et l'inclusion. (S1 Fig. 1 a) Les 11 individus sans CD8 $^{+}$ détectableLes réponses des lymphocytes T étaient uniformément réparties entre les groupes de gravité de la maladie et présentaient une capacité de neutralisation des anticorps variable (S1 Fig. 3). Sur cette base, nous n'avons pu identifier que deux individus avec à la fois aucun anticorps neutralisant détectable et aucune réponse des lymphocytes T CD8 $^{+}$ détectable . Ainsi, nous concluons que 90 % des individus infectés par le SRAS-CoV-2 présentent une réponse cellulaire CD8 $^{+}$ T détectable , vis-à-vis des neuf épitopes testés, quelle que soit la gravité de la maladie. Nous concluons en outre que l'épitope ciblé le plus large dans cette cohorte est situé dans la protéine de pointe. Enfin, il existe une corrélation globale faible mais statistiquement significative des réponses en anticorps et des réponses des lymphocytes T CD8 $^{+}$.

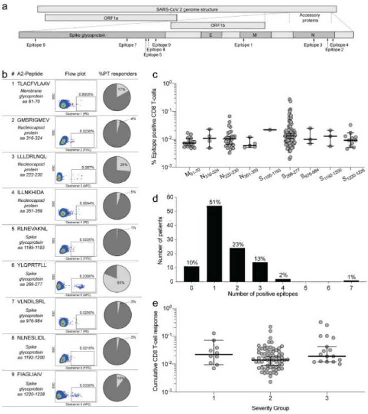

Fig. 5 Caractérisation des réponses des lymphocytes T CD8+ au SRAS-CoV-2 chez les individus HLA-A2+. a) Aperçu de l' emplacement de l'épitope HLA-A2 $^{+}$ dans les protéines du SRAS-CoV-2. b). Séquence d'épitopes et stratégie de déclenchement du signal du dextramère individuel sur les cellules CD8 $^{+}$ T, avec le pourcentage de reconnaissance au sein de la cohorte indiqué pour chacun. La stratégie de déclenchement complète est affichée dans S1 Fig 2 . c) La fréquence des cellules CD8 $^{+}$ T sensibles au SRAS-CoV-2 pour chaque épitope. Nuage de points avec des points de données individuels indiqués avec la médiane (ligne large) et l'intervalle interquartile (lignes étroites). n = 106 d) Largeur de CD8 $^{+}$Réponses des lymphocytes T représentées par le nombre cumulé d' épitopes de lymphocytes T CD8 $^{+}$ ciblés par les patients. Les équivalents en pourcentage du nombre de

patients sont indiqués en haut des barres pour chaque groupe cumulé. n = 106 e) Distribution des réponses cumulatives des lymphocytes T CD8 $^+$ chez les individus HLA-A2 $^+$, entre les groupes de gravité de la maladie. Les barres d'erreur indiquent la médiane (ligne large) et l'intervalle interquartile (lignes étroites). n=106. 10 % des individus n'avaient pas de réponse d'épitope de lymphocytes T CD8 $^+$ détectable , et ne sont pas représentés sur le graphique mais ont été inclus dans les tests statistiques. Comparaison statistique par test de Mann-Whitney. ns = p > 0,05.

Voir l'image en grand | Visionneuse de figures
| Télécharger l'image haute résolution | Télécharger (PPT)

Tableau 2 Réponses cumulées des cellules CD8 $^+$ T en corrélation avec la sérologie.

Corrélations avec les réponses cumulatives des lymphocytes T CD8+ spécifiques à l'épitope		
Paramètre immunologique	valeur r	valeur p
Valeurs IC50	0,2542	0,0107
Anticorps bloquant le SRAS-CoV-2 Spike ACE2 ng/mL	0,2906	0,0147
Anticorps bloquant le SARS-CoV-2 RBD ACE2 ng/mL	0,3057	0,0101
SRAS-CoV-2 Spike IgG	0,2659	0,0261
SRAS-CoV-2 RBD IgG	0,2704	0,0236
IgG du domaine N-terminal du SRAS-CoV-2	0,2918	0,0143
IgG nucléocapside SARS-CoV-2	0,2102	0,0807

Ouvrir le tableau dans un nouvel onglet

Corrélations des coefficients de rang de Spearman affichant la relation entre l'amplitude globale des réponses des cellules CD8 $^+$ T envers les épitopes du SRAS-CoV-2 en % et les valeurs IC50 de neutralisation, le signal chimioluminescent IgG et les titres d'anticorps bloquant l'ACE2 en ng/ml, pour tous les SRAS- Antigènes CoV-2 étudiés.

4. Discussion

Nous avons cherché à caractériser la réponse immunitaire adaptative cellulaire et humorale dans une grande cohorte de patients récupérés du SRAS-CoV-2 vérifiés par RT-PCR, couvrant un spectre complet de gravité COVID-19. Dans l'ensemble, nos résultats montrent que la majorité des patients ont développé une réponse immunitaire à la fois humorale et cellulaire robuste et large au SRAS-CoV-2. Cependant, nos données peuvent également aider à expliquer que certains individus rares n'ont pas de mémoire immunologique détectable au SRAS-CoV-2, et peuvent donc être à risque de réinfection comme cela a été rapporté dans quelques rapports de cas [21, 22, 23, 24].

Nous avons pu détecter des anticorps spécifiques au SRAS-CoV-2 chez tous les 203 individus étudiés sauf un, indépendamment de la gravité de leur maladie et de la durée des symptômes. La spécificité des anticorps était répartie sur plusieurs antigènes du SRAS-CoV-2, et avec une activité sérologique du coronavirus observée contre les coronavirus humains SARS-CoV-1, MERS, HKU1 et OC43. Similaire aux études précédentes [[36]], nous avons confirmé les capacités de neutralisation fonctionnelle et de blocage de l'ACE2 du pic SARS-CoV-2 et des anticorps spécifiques de RBD. Cela implique sensiblement le développement d'une réponse immunitaire humorale robuste au sein de la grande majorité de la population récupérée de COVID-19. En outre, presque tous les individus ont également des réponses IgA spécifiques au SRAS-CoV-2, indiquant clairement un changement de classe fonctionnel rigoureux et une maturation des anticorps. Cette présence d'IgA est cruciale pour la protection immunologique au niveau des barrières muqueuses, et donc la protection contre les futures expositions au SARS-CoV-2.

Toutes les données sérologiques et fonctionnelles recueillies montrent que les taux d'anticorps et le pouvoir de neutralisation sont en corrélation significative avec la gravité de la maladie. Cela indique que la manifestation grave de la maladie n'est pas causée par un manque d'immunité adaptative, ce qui est conforme aux rapports précédents [[37],[38]]. Par conséquent, nous suggérons que l'évolution prolongée de la maladie et l'exposition plus importante au virus qui en résulte chez les patients hospitalisés peuvent fournir un délai dans lequel une maturation améliorée de l'affinité des anticorps a lieu, par rapport aux infections bénignes à évolution plus courte. Il convient de noter que la durée de la maladie a également un impact sur le temps écoulé entre l'infection et l'échantillonnage dans cette étude, car les participants devaient être complètement exempts de symptômes avant la visite à l'hôpital. Ce temps, de la détection de l'infection à la collecte des échantillons, est une limitation claire de cette étude, car la durée de la maladie est hétérogène au sein de la cohorte. Dans le cadre de la première vague de la pandémie, nous ne pouvions pas permettre aux personnes souffrant par exemple de toux persistante d'entrer dans les établissements hospitaliers. Comme COVID-19 a une durée de spectre de maladie très large, certains participants ont dû attendre plus longtemps pour leur visite jusqu'à ce que les symptômes aigus persistants soient complètement résolus. Alternativement, nous n'aurions pas été en mesure de rendre compte d'une cohorte récupérée

Les études sont contradictoires sur le degré auquel l'immunité à réaction croisée entre différents coronavirus se développe au cours des infections par le SRAS-CoV-2 [[18],[37],39, 40, 41]. La diversité considérable de la reconnaissance des antigènes indépendamment de la gravité du COVID-19 montrée ici, démontre qu'au moins une certaine reconnaissance croisée immunologique de plusieurs coronavirus différents est développée au cours des infections par le SRAS-CoV-2. Ceci est conforme aux données sur la réactivité croisée dans les épitopes des cellules CD4 $^{+}$ T entre les coronavirus saisonniers et le SRAS-CoV-2 [[42]]. La réactivité croisée observée entre le SARS-CoV-2, le SARS-CoV-1 et le MERS, peut être due à des épitopes conservés entre ces virus, car des infections antérieures par le SARS-CoV-1 ou le MERS au sein de notre cohorte basée au Danemark sont hautement improbables. Une telle réactivité croisée potentielle pourrait survenir soit par des anticorps spécifiques du SRAS-CoV-2 nouvellement générés réagissant avec des épitopes conservés, soit par la réactivation de cellules mémoire générées à l'origine contre les coronavirus saisonniers. La reconnaissance accrue des anticorps entre la cohorte et les témoins pour les souches saisonnières de coronavirus HKU1 et OC43, bien que statistiquement significative, était bien inférieure à celle observée pour les épitopes de coronavirus restants. Cela suggère que les contrôles négatifs du SRAS-CoV-2 peuvent avoir été préalablement exposés à ces souches, augmentant considérablement le bruit de fond global de ces épitopes. Surtout, les analyses sérologiques multiplex que nous avons effectuées ne donnent pas un aperçu de la réponse des anticorps SARS-CoV-2 au niveau des anticorps monoclonaux. Ici, d'autres études sont nécessaires pour déterminer les propriétés protectrices et de réaction croisée possibles des spécificités d'un seul anticorps.

Nous avons vérifié fonctionnellement les réponses en anticorps chez tous les individus, en utilisant deux tests distincts. Les tests de neutralisation à base de cellules sont actuellement la méthode standard pour déterminer la puissance des anticorps neutralisants SARS-CoV-2. Nous avons également utilisé le test multiplex du nouveau coronavirus MSD, récemment rapporté par Johnson *et al* [[29]] pour déterminer la capacité de blocage de l'ACE2 des anticorps sériques individuels. La corrélation significative entre les deux résultats de test identifie le test de compétition ACE2 au format plaque comme un outil de dépistage puissant et à haut débit, avec des applications à la fois dans le développement d'anticorps neutralisants thérapeutiques SARS-CoV-2 et dans les évaluations de l'induction d'anticorps protecteurs fonctionnels après la vaccination. Un immense effort mondial est actuellement entrepris pour développer, distribuer et évaluer des vaccins efficaces contre le SRAS-CoV-2, dont la majorité sont axés sur l'induction d'une immunité spécifique aux pointes ou à l'antigène RBD [[43]]. Ici, nous démontrons que des anticorps bloquant l'ACE2 spécifiques au pic du SRAS-CoV-2 sont trouvés chez la majorité des individus infectés. Leur induction étendue, même dans les infections asymptomatiques à court terme, s'aligne sur les conceptions actuelles des vaccins induisant une immunité protectrice basée sur des antigènes de pointe [8, 9, dix, 11, 12, 13,[44],[45]]. Néanmoins, l'effet protecteur des anticorps induits lors d'infections naturelles reste à déterminer.

Nous rapportons en outre, avec une résolution à un seul épitope, une réponse des lymphocytes T CD8 $^+$ spécifique au SRAS-CoV-2 chez 90% des individus HLA-A2 $^+$ analysés. Cela correspond bien à d'autres études rapportant une activation des cellules CD8 $^+$ T chez 70 % à 100 % des patients guéris en utilisant une stimulation de peptides chevauchants de protéines complètes [[26],[46]]. L'emplacement des trois principaux épitopes immunogènes au sein de protéines distinctes dans le protéome viral renforce en outre notre conclusion selon laquelle une large réponse immunitaire est générée contre le SRAS-CoV-2 dans la population générale infectée. L'immunité des lymphocytes T contre le SRAS-CoV-1 est connue pour persister jusqu'à six ans [[47],[48]], soulignant l'importance de développer une immunité cellulaire protectrice contre le SRAS-CoV-2 si une protection virale à long terme doit être obtenue. Point important, l' épitope des lymphocytes T CD8 $^+$ le plus largement reconnu ($S_{269-277}$) au sein de notre cohorte (réponses détectées chez 81 % des individus HLA-A2 $^+$) est situé dans l'antigène de pointe. Ainsi, une telle spécificité d'épitope peut clairement être utilisée pour évaluer l'immunité des lymphocytes T CD8 $^+$ dans l'évaluation des efforts de vaccination actuellement en cours.

Étonnamment, nous avons constaté que la réponse cumulative des lymphocytes T CD8 $^+$, à travers tous les épitopes, ne variait pas selon la gravité de la maladie contrairement à ce que nous et d'autres [[49]], observé avec les niveaux d'anticorps. Bien que la couverture limitée des épitopes étudiés ici puisse influencer cette observation, des preuves récentes suggèrent que la réplication virale persistante chez des patients autrement guéris peut être liée à l' amplitude de la réponse des lymphocytes T CD8 $^+$ [[30]]. Malgré les différentes observations concernant les réponses immunitaires et la gravité de la maladie, nous avons trouvé des relations globales significatives entre l'immunité humorale et celle basée sur les lymphocytes T, mais toutes de force modeste. Une explication possible pourrait être la diminution synchronisée de l'ampleur de la réponse pour les deux paramètres immunitaires pendant la période allant de la récupération à l'inscription à l'étude.

Il est à noter que l'utilisation de la coloration au dextramère est limitée par l'inclusion d'épitopes sélectionnés et de type HLA uniquement, et les conclusions sont par conséquent limitées à la couverture d'épitope relativement faible. Cependant, les avantages de la technologie du dextramère sont une sensibilité supérieure et un degré élevé de spécificité. À la lumière de la couverture relativement faible du protéome, le fait que seulement 10 % des individus étudiés n'avaient pas de réponse des lymphocytes T CD8 $^+$ détectable indique clairement une forte composante cytotoxique des lymphocytes T dans la réponse immunitaire contre le SRAS-CoV-2 . De plus, comme nos observations d'ampleur et d'ampleur par rapport à la distribution d'antigènes distincts du SRAS-CoV-2 sont similaires aux autres [[46],[49]] nous concluons que le panel de dextramères appliqué ici fournit une représentation nouvelle et sensible de la réponse générale des lymphocytes T CD8 $^+$ au SRAS-CoV-2 qui sera un outil important pour évaluer l'immunité à long terme après une infection primaire ou une vaccination.

En conclusion, nous avons observé que la gravité de la maladie est étroitement liée à la puissance et à l'étendue de la réponse des anticorps contre le SRAS-CoV-2. De plus, nous avons identifié la protéine de pointe du SRAS-CoV-2 comme cible de l'immunité adaptative dans > 99% de la cohorte, quelle que soit la manifestation des symptômes de COVID-19. Seuls deux individus (<2%) n'avaient ni anticorps avec une capacité de neutralisation virale, ni réponses détectables des lymphocytes T CD8 $^+$. Par conséquent, nous concluons que quelle que soit la gravité du COVID-19, une réponse immunitaire adaptative robuste contre le SRAS-CoV-2 est déclenchée lors des infections primaires.

Contributeurs

SFN, LKV, MT, MHS, OSS, LØ ont contribué à la conception de l'étude, à la collecte de données, à l'analyse des données, à l'interprétation des données, à la recherche documentaire et à la rédaction de ce rapport. IMJ, RO, GSF, MHP, CE, AH et RH ont contribué aux expériences, à l'analyse et à l'interprétation des données. JFH, JDG et LKV ont contribué au recrutement individuel, à la collecte de données et à la gestion clinique. SFN, MT, MHS et LKV ont eu accès et vérifié toutes les données sous-jacentes. La version finale de cet article a été revue et approuvée par tous les auteurs.

Déclaration d'intérêts

Le Dr Erikstrup rapporte des subventions d'Abbott Diagnostics, en dehors du travail soumis. Le Dr Holleufer et le Dr Hartmann rapportent des subventions du Conseil danois de la recherche, des subventions de la Fondation Novo Nordisk, pendant la conduite de l'étude. Le Dr Tolstrup rapporte des subventions du Fonds danois pour l'innovation, des subventions du ministère danois de la

Recherche et de l'Éducation, un soutien non financier de MesoScale Diagnostics, pendant la conduite de l'étude. Tous les autres auteurs n'ont aucun conflit d'intérêts à divulguer.

Remerciements

Nous tenons à remercier toutes les personnes participant à l'étude pour l'aimable don de leur temps et de leur matériel biologique. Merci à MesoScale Discovery, pour avoir fourni les réactifs et le matériel pour permettre cette étude. La figure 5a a été créée avec l'aide de BioRender.com. Nous remercions Lene Svinth Jønke pour son immense assistance au laboratoire lors de la collecte du matériel des patients. Merci, à toute l'équipe du Service des Maladies Infectieuses, pour leurs retours et échanges scientifiques. Cette étude a été financée par une subvention du ministère danois de la Recherche et de l'Éducation (subvention n° 0238-00001B) et du Fonds danois pour l'innovation (subvention n° 0208-00018B)

Déclaration de partage de données

Les données individuelles des participants ne peuvent pas être mises à disposition en raison du règlement de l'UE sur la protection des données (RGPD). Une version limitée et complètement anonymisée de l'ensemble de données peut être obtenue sur demande. Les protocoles d'étude, y compris les protocoles de laboratoire, seront disponibles sur demande. Les propositions doivent être adressées à stsoni@rm.dk ou marttols@rm.dk

Appendice. Matériaux supplémentaires

Télécharger .pdf (1,23 Mo) Aide avec les fichiers pdf

Télécharger .docx (0,03 Mo) Aide avec les fichiers docx

Télécharger .docx (0,01 Mo) Aide avec les fichiers docx

Les références

[1]. Zhou P • Yang XL • Wang XG • et al.
Une épidémie de pneumonie associée à un nouveau coronavirus d'origine probable de chauve-souris.
Nature. 2020 ; **579** : 270-273

Voir dans l'article
Scopus (6511) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[2]. QUI Rapport de situation sur la maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) 51. Who.int. 2021(11 mars 2020 [Cité le 2 décembre 2020]. Disponible à partir de)

https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200311-sitrep-51-covid-19.pdf?sfvrsn=1ba62e57_10

Voir dans l'article

Google Scholar

[3]. QUI Rapports de situation sur la maladie à coronavirus (COVID-19), Mise à jour épidémiologique hebdomadaire -23 février 2021. 2021(Who.int. 1er décembre 2020 [Cité le 3 février 2021]. Disponible sur : https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update—23-february-2021)

Voir dans l'article

Google Scholar

[4]. Hoffmann M • Kleine Weber H • Schröder S • et al.
L'entrée des cellules SARS-CoV-2 dépend de ACE2 et TMPRSS2 et est bloquée par un inhibiteur de protéase cliniquement prouvé.
Cellule. 2020 ; **181** (80.e8) : 271

Voir dans l'article

Scopus (5160) • PubMed • Résumé • Texte intégral • Texte intégral PDF • Google Scholar

[5]. Murs AC • Parc YJ • MA Tortorici • Mur A • McGuire AT • Veesler D.
Structure, fonction et antigénicité de la glycoprotéine de pointe SARS-CoV-2.
Cellule. 2020 ; **181** (92.e6) : 281

Voir dans l'article

Scopus (2304) • PubMed • Résumé • Texte intégral • Texte intégral PDF • Google Scholar

[6]. Cascella M • Rajnik M • Cuomo A • Dulebohn SC • Di Napoli R. Caractéristiques, évaluation et traitement du coronavirus (COVID-19). Éditions StatPearls, Treasure Island (FL) 2020 (StatPearlsCopyright © 2020, StatPearls Publishing LLC)

Voir dans l'article

Google Scholar

[7]. QUI Salle de presse - 172 pays et plusieurs vaccins candidats engagés dans le Global Access Facility du vaccin COVID-19. 2020(Who.int. 24 août 2020. [Cité le 2 décembre 2020]. Disponible à partir de)
https://www.who.int/news-room/detail/24-08-2020-172-countries-and-multiple-candidate-vaccines-engaged-in-covid-19-vaccine-global-access-facility
((accès)

Voir dans l'article

Google Scholar

[8]. Polack FP • Thomas SJ • Cuisine N • et al.
Sécurité et efficacité du vaccin Covid-19 à ARNm BNT162b2.
N Engl J Med. 2020 ; **383** : 2603-2615

Voir dans l'article

Scopus (940) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[9]. Bade LR • El Sahly HM • Essink B • et al.
Efficacité et sécurité du vaccin ARNm-1273 SARS-CoV-2.
N Engl J Med. 2020 ; **384** : 403-416

Voir dans l'article
Scopus (490) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[dix]. Voysey M • Clemens SAC • Madhi SA • et al.
Sécurité et efficacité du vaccin ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) contre le SRAS-CoV-2 : une analyse intermédiaire de quatre essais contrôlés randomisés au Brésil, en Afrique du Sud et au Royaume-Uni.
Lancet North Am Ed. 2021 ; **397** : 99-111

Voir dans l'article
Scopus (402) • PubMed • Résumé • Texte intégral • Texte intégral PDF • Google Scholar

[11]. Keech C • Albert G • Cho je • et al.
Essai de phase 1-2 d'un vaccin à nanoparticules de protéine de pointe recombinante contre le SRAS-CoV-2.
N Engl J Med. 2020 ; **383** : 2320-2332

Voir dans l'article
Scopus (200) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[12]. Logunov DY • Doljikova IV • Shcheblyakov DV • et al.
Innocuité et efficacité d'un vaccin COVID-19 hétérologue à base de vecteurs rAd26 et rAd5 : une analyse intermédiaire d'un essai contrôlé randomisé de phase 3 en Russie.
Lancet North Am Ed. 2021 ; **397** : 671-681

Voir dans l'article
PubMed • Résumé • Texte intégral • Texte intégral PDF • Google Scholar

[13]. Sadoff J • Le Gars M • Shukarev G • et al.
Résultats intermédiaires d'un essai de phase 1-2a du vaccin Ad26.COV2.S Covid-19.
N Engl J Med. 2021 ;

Voir dans l'article
PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[14]. PD de Burbelo • Riedo FX • Morishima C • et al.
Sensibilité dans la détection des anticorps contre les protéines de nucléocapside et de pointe du coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère chez les patients atteints de la maladie à coronavirus 2019.
J Infecter Dis. 2020 ; **222** : 206-213

Voir dans l'article
Scopus (77) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[15]. Gudbjartsson DF • Norddahl GL • P fondu • et al.
Réponse immunitaire humorale au SRAS-CoV-2 en Islande.
NEJM. 2020 ;

Voir dans l'article
Scopus (224) • Référence croisée • Google Scholar

[16]. Dingens AS • Crawford KHD • Adler A • et al.
Identification sérologique des infections au SRAS-CoV-2 chez les

enfants visitant un hôpital lors de l'épidémie initiale de Seattle.
Nat Commun. 2020 ; **11** : 4378

Voir dans l'article
Scopus (14) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[17]. Qu J • Wu C • Li X • et al.
Profil des anticorps d'immunoglobuline G et IgM contre le coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV-2).
Clin Infect Dis. 2020 ;

Voir dans l'article
Scopus (94) • Référence croisée • Google Scholar

[18]. Pinto D • Parc YJ • Beltramello M • et al.
Neutralisation croisée du SARS-CoV-2 par un anticorps monoclonal humain SARS-CoV.
Nature. 2020 ; **583** : 290-295

Voir dans l'article
Scopus (337) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[19]. Wu F • Wang A • Liu M • et al.
Réponses en anticorps neutralisants au SRAS-CoV-2 dans une cohorte de patients guéris du COVID-19 et leurs implications.
medRxiv. 2020 ;2020.03.30.20047365

Voir dans l'article
Google Scholar

[20]. Rogers TF • Zhao F • Huang D • et al.
Isolement de puissants anticorps neutralisants SARS-CoV-2 et protection contre la maladie dans un petit modèle animal.
La science. 2020 ;: eabc7520

Voir dans l'article
PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[21]. Vers KK-W • Accroché IF-N • IP JD • et al.
Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Réinfection par une souche de coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère phylogénétiquement distincte confirmée par séquençage du génome entier.
Clin Infect Dis. 2020 ;

Voir dans l'article
Référence croisée • Google Scholar

[22]. Van Elslande J • Vermeersch P • Vandervoort K • et al.
Réinfection symptomatique du SRAS-CoV-2 par une souche phylogénétiquement distincte.
Clin Infect Dis. 2020 ;

Voir dans l'article
PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[23]. Tillett RL • Sevinsky JR • PD de Hartley • et al.
Preuves génomiques de la réinfection par le SRAS-CoV-2 : une étude de cas.
Lancet Infect Dis. 2020 ;

Voir dans l'article

PubMed • Résumé • Texte intégral • Texte intégral PDF • Google Scholar

[24]. Iwasaki A. Que signifient les réinfections pour COVID-19. *The Lancet Maladies infectieuses* .

Voir dans l'article

Google Scholar

[25]. Chandrashekar A • Liu J • Martinot AJ • et al.
L'infection par le SRAS-CoV-2 protège contre la récidive chez les macaques rhésus.
La science. 2020 ; **369** : 812-817

Voir dans l'article

Scopus (268) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[26]. Sekine T • Perez-Potti A • Rivera-Ballesteros O • et al.
Immunité robuste des cellules T chez les personnes convalescentes atteintes de COVID-19 asymptomatique ou léger.
Cellule. 2020 ;

Voir dans l'article

Scopus (273) • PubMed • Résumé • Texte intégral • Texte intégral PDF • Google Scholar

[27]. Le Bert N • Bronzage à • Kunasegaran K • et al.
Immunité des cellules T spécifique au SRAS-CoV-2 en cas de COVID-19 et de SRAS, et contrôles non infectés.
Nature. 2020 ; **584** : 457-462

Voir dans l'article

Scopus (339) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[28]. Zhang F • Gan R • Zhen Z • et al.
Réponses immunitaires adaptatives à l'infection par le SRAS-CoV-2 chez les individus sévères par rapport aux individus légers
Transduction du signal et thérapie ciblée. 2020 ; **5** : 156

Voir dans l'article

Scopus (28) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[29]. Johnson M • Wagstaffe RH • Gilmour KC • et al.
Évaluation d'un nouveau test multiplexé pour déterminer les niveaux d'IgG et l'activité fonctionnelle du SRAS-CoV-2.
J Clin Virol. 2020 ; **130** 104572

Voir dans l'article

Scopus (8) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[30]. Vibholm LK • Nielsen SSF • Pahus MH • et al.
La persistance du SRAS-CoV-2 est associée à des réponses des lymphocytes T CD8 spécifiques à l'antigène.
EBioMédecine. 2021 ; **64**

Voir dans l'article

Scopus (7) • PubMed • Résumé • Texte intégral • Texte intégral PDF • Google Scholar

[31]. GeurtsvanKessel CH • Okba NMA • Igloi Z • et al.
Une évaluation des tests sérologiques COVID-19 éclaire les diagnostics futurs et l'évaluation de l'exposition.

Nat Commun. 2020 ; **11** : 3436

Voir dans l'article

Scopus (98) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[32]. Hanika A • Larisch B • Steinmann E • Schwegmann-Weßels C • Herrler G • Zimmer G.
Utilisation de la glycoprotéine HEF du virus de la grippe C pour la génération de pseudotypes du virus de la stomatite vésiculeuse.
J Gen Virol. 2005 ; **86** : 1455-1465

Voir dans l'article

Scopus (53) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[33]. Berger Rentsch M • Zimmer G.
Un essai biologique basé sur les réplicons du virus de la stomatite vésiculeuse pour la détermination rapide et sensible de l'interféron multi-espèces de type I.
PLoS One. 2011 ; **6** : e25858

Voir dans l'article

Scopus (95) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[34]. Hoffmann M • Müller MA • Drexler JF • et al.
Sensibilité différentielle des cellules de chauve-souris à l'infection par des virus à ARN enveloppés : coronavirus, paramyxovirus, filovirus et virus de la grippe.
PLoS One. 2013 ; **8** : e72942

Voir dans l'article

Scopus (58) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[35]. Hojen JF • TA Rasmussen • Andersen KL • et al.
L'expression de l'interleukine-37 est augmentée chez les personnes infectées chroniques par le VIH-1 et est associée à l'inflammation et à la taille du réservoir viral total.
Médecine moléculaire (Cambridge, Mass). 2015 ; **21** : 337-345

Voir dans l'article

Scopus (26) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[36]. Robbiani DF • Gaebler C • Mücksch F • et al.
Réponses convergentes des anticorps au SRAS-CoV-2 chez les personnes convalescentes.
Nature. 2020 ; **584** : 437-442

Voir dans l'article

Scopus (377) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[37]. QX long • Liu BZ • Deng HJ • et al.
Réponses des anticorps au SRAS-CoV-2 chez les patients atteints de COVID-19.
Nat Med. 2020 ; **26** : 845-848

Voir dans l'article

Scopus (905) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[38]. QX long • Tang XJ • Shi QL • et al.
Évaluation clinique et immunologique des infections asymptomatiques par le SRAS-CoV-2.
Nat Med. 2020 ; **26** : 1200-1204

Voir dans l'article

Scopus (801) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[39]. Ju B • Zhang Q • Ge J • et al.
Anticorps neutralisants humains provoqués par l'infection par le SRAS-CoV-2.
Nature. 2020 ; **584** : 115-119

Voir dans l'article

Scopus (391) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[40]. van der Heide V.
Réactivité croisée SARS-CoV-2 chez des donneurs sains.
Nat Rev Immunol. 2020 ; **20** : 408-

Voir dans l'article

Scopus (6) • Référence croisée • Google Scholar

[41]. Iyer AS • Jones FK • Nodouchani A • et al.
Persistance et décroissance des réponses des anticorps humains au domaine de liaison au récepteur de la protéine de pointe SARS-CoV-2 chez les patients COVID-19.
Immunologie scientifique. 2020 ; **5**

Voir dans l'article

Scopus (88) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[42]. Mateus J • Grifoni A • Tarke A • et al.
Epitopes sélectifs et croisés des cellules T du SRAS-CoV-2 chez les humains non exposés.
La science. 2020 ;: eabd3871

Voir dans l'article

Google Scholar

[43]. Alturki SO • Alturki SO • Connors J • et al.
La pandémie de 2020 : développement actuel du vaccin contre le SRAS-CoV-2.
Immunol avant. 2020 ; **11**

Voir dans l'article

Google Scholar

[44]. Jackson LA • Anderson EJ • Rouphaël NG • et al.
Un vaccin à ARNm contre le SRAS-CoV-2 - Rapport préliminaire.
N Engl J Med. 2020 ; **383** : 1920-1931

Voir dans l'article

Scopus (637) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[45]. Mulligan MJ • Lyke KE • Cuisine N • et al.
Étude de phase I/II du vaccin à ARN COVID-19 BNT162b1 chez l'adulte.
Nature. 2020 ; **586** : 589-593

Voir dans l'article

Scopus (243) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[46]. Grifoni A • Weiskopf D • Ramirez SI • et al.
Cibles des réponses des lymphocytes T au coronavirus SARS-CoV-2 chez les humains atteints de la maladie COVID-19 et les individus

non exposés.
Cellule. 2020 ; **181** (501.e15) : 1489

Voir dans l'article

Scopus (852) • PubMed • Résumé • Texte intégral • Texte intégral PDF • Google Scholar

[47]. Yang LT • Peng H • Zhu ZL • et al.
Réponses des lymphocytes T effecteurs/mémoire centrale à longue durée de vie à l'antigène S du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) chez les patients guéris du SRAS.
Immunologie clinique (Orlando, Floride). 2006 ; **120** : 171-178

Voir dans l'article

Scopus (72) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[48]. Tang F • Quan Y • Xin ZT • et al.
Manque de réponses des cellules B à mémoire périphérique chez les patients récupérés atteints du syndrome respiratoire aigu sévère : une étude de suivi de six ans.
J Immunol. 2011 ; **186** : 7264-7268

Voir dans l'article

Scopus (208) • PubMed • Référence croisée • Google Scholar

[49]. Peng Y • Mentzer AJ • Liu G • et al.
Cellules T CD4+ et CD8+ à mémoire large et forte induites par le SRAS-CoV-2 chez des personnes convalescentes au Royaume-Uni après COVID-19.
Nat Immunol. 2020 ;

Voir dans l'article

Scopus (136) • Référence croisée • Google Scholar

Informations sur l'article

Historique des publications

Publié: 04 juin 2021
Accepté : 7 mai 2021
Reçu sous forme révisée : 7 mai 2021
Reçu : 4 mars 2021

Identification

DOI : https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103410

droits d'auteur

© 2021 L'auteur(s). Publié par Elsevier BV

Licence d'utilisation

Attribution Creative Commons – Non Commercial – NoDerivs (CC BY-NC-ND 4.0) | Comment vous pouvez réutiliser ⓘ

ScienceDirect

Accédez à cet article sur ScienceDirect

Les figures

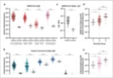
Fig. 1 Présence étendu…

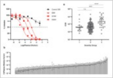
Fig. 2 La capacité de n…

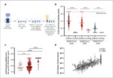
Fig. 3 Quantification d…

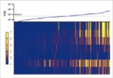
Fig. 4 L'étendue de la r…

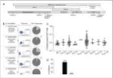
Fig. 5 Caractérisation …

les tables

Tableau 1 : Caractéristiques de la cohorte.

Tableau 2 : Réponses cumulées des cellules CD8 $^+$ T en corrélation avec la sérologie.

THE LANCET

REVUES DE LANCET

La Lancette

The Lancet Santé de l'enfant et de l'adolescent

The Lancet Diabète & Endocrinologie

The Lancet Santé numérique

The Lancet Gastroentérologie et hépatologie

The Lancet Global Health

L'hématologie de la lancette

Longévité en bonne santé du Lancet

Le Lancet VIH

The Lancet Maladies infectieuses

Le Lancet Neurologie

Le Lancet Oncologie

La santé planétaire du Lancet

La psychiatrie du Lancet

La santé publique du Lancet

The Lancet Regional Health – Amériques

The Lancet Regional Health – Europe

The Lancet Regional Health – Pacifique occidental

La médecine respiratoire du Lancet

The Lancet Rhumatologie

INITIATIVES CLINIQUES

La clinique du *Lancet*

Commissions

Séries

Quiz photo

INITIATIVES DE SANTÉ MONDIALE

Portail de la santé mondiale

Commissions

Séries

Charge mondiale de morbidité

Compte à rebours climatique

MULTIMÉDIA

INFORMATIONS

À propos de nous

Pour les auteurs

Pour les annonceurs

Pour la presse

Excellence éditoriale

Carrières

Conférences

ACCÈS

Accéder à notre contenu

Enregistrez un compte

Mon compte

Abonnements personnels

Accès libre

Abonnés existants à l'impression

Demander un accès institutionnel

RELIER