



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

RAPPORT

Aspects immunologiques et virologiques de l'infection par le SARS-CoV-2

Variabilité génétique, réponses
immunitaires, plateformes
vaccinales et modèles animaux

25 novembre 2020

Descriptif de la publication

Titre	Aspects immunologiques et virologiques de l'infection par le SARS-CoV-2 Variabilité génétique, réponses immunitaires, plateformes vaccinales et modèles animaux
Méthode de travail	Revue de la littérature
Objectif(s)	Donner des éléments de connaissance pour la compréhension et l'interprétation des résultats des essais cliniques sur les candidats vaccins contre le SARS-CoV-2
Cibles concernées	Professionnels de santé, Journalistes, Grand Public
Demandeur	Direction générale de la santé (DGS)
Promoteur(s)	Haute Autorité de santé (HAS)
Pilotage du projet	Copilotage CTV : Jean-Daniel Lelièvre, Agnès Gautheret-Dejean Copilotage SEESP-HAS : Sophie Tchakamian, chef de projet, Anne Doussin (ajointe à la cheffe de service), Michèle Morin-Surroca (cheffe de service)
Recherche documentaire	Sylvie Lascols (assistante documentaliste), Marina Rennesson (documentaliste)
Auteurs	Jean-Daniel Lelièvre, Agnès Gautheret-Dejean, Daniel Floret, Sophie Tchakamian
Conflits d'intérêts	Les membres du groupe de travail ont communiqué leurs déclarations publiques d'intérêts à la HAS. Elles sont consultables sur le site https://dpi.sante.gouv.fr . Elles ont été analysées selon la grille d'analyse du guide des déclarations d'intérêts et de gestion des conflits d'intérêts de la HAS. Les intérêts déclarés par les membres du groupe de travail ont été considérés comme étant compatibles avec leur participation à ce travail.
Validation	Version du 25 novembre 2020
Actualisation	nov. 2020
Autres formats	Synthèse téléchargeable gratuitement sur www.has-sante.fr

Ce document ainsi que sa référence bibliographique sont téléchargeables sur www.has-sante.fr 

Haute Autorité de santé – Service communication et information
5 avenue du Stade de France – 93218 Saint-Denis a Plaine Cedex. Tél. : +33 (0)1 55 93 70 00
© Haute Autorité de santé – novembre 2020 – ISBN :978-2-11-155666-9

Sommaire

Préambule	6
Méthodologie	7
L'Essentiel	8
1.1. Le SARS-CoV-2 : structure et variabilité	8
1.2. Modèles animaux	9
1.3. Analyses immunologiques effectuées dans les essais cliniques de vaccin anti-SARS-CoV-2	10
1.3.1. Réponse humorale quantitative et qualitative	10
1.3.2. Réponse immune cellulaire	11
1.4. Immunité et vaccins contre les coronavirus hors virus de type SARS-CoV-1 et MERS-CoV	11
1.5. Immunité et vaccins contre le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV	12
1.5.1. Réponse immune humorale	12
1.5.2. Réponse immune cellulaire	13
1.6. Immunité contre le SARS-CoV-2	13
1.7. Les plateformes vaccinales contre le SARS-CoV-2	14
1.8. Les adjuvants utilisés avec les candidats vaccins contre le SARS-CoV-2	16
1.9. Immunité et vaccination muqueuses	17
1.10. Les résultats des essais de phase 1 et/ou 2 publiés	17
Synthèse détaillée	21
1. Le SARS-CoV-2 : Structure et variabilité	22
1.1. Classification	22
1.2. Structure du virion et de son génome	22
1.3. Origine du SARS-CoV-2	26
1.4. Variabilité et évolution génétique du SARS-CoV-2	27
1.4.1. Phylogénie des souches de SARS-CoV-2	27
1.4.2. Taux de substitution/nucléotide/génome/an	28
1.4.3. Mutations majeures et impact sur la pathogénicité	28
1.4.4. Impact de la variabilité sur l'échappement au système immunitaire	30
2. Modèles animaux en vaccinologie et dans le contexte de l'infection par le SARS-Cov-2	32
2.1. Présentation générale	32
2.2. Limitations et problématiques des modèles animaux	33
2.2.1. Absence d'infection naturelle dans l'espèce considérée	33
2.2.2. La physiopathologie et la gravité de l'infection peuvent être différentes	33
2.2.3. Le système immunitaire est différent entre les espèces	33

2.2.4.	Plusieurs facteurs influencent la sévérité de l'infection par le SARS-Cov-2 chez l'Homme	34
2.2.5.	Influence du microbiote digestif	34
2.3.	Les modèles animaux dans le SARS-CoV-2	34
3.	Les réponses immunitaires anti-coronavirus	39
3.1.	Réponse immunité innée	39
3.2.	Réponses immunitaires adaptatives contre les coronavirus animaux	40
3.2.1.	Le virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV)	40
3.2.2.	Le virus de la gastro-entérite transmissible porcine (TGEV)	41
3.2.3.	Le coronavirus respiratoire bovin (TGEV)	41
3.2.4.	Le virus de la péritonite infectieuse du chat (FIPV)	41
3.2.5.	Le virus de l'hépatite murine (MHV)	41
3.3.	Réponses adaptatives contre les souches de coronavirus humains peu pathogènes (HKU1, NL63, OC43 et 229E)	43
3.4.	Réponses adaptatives contre les SARS-CoV-1 et MERS-CoV	44
3.5.	Réponses anticorps (Ac)	44
3.5.1.	Réponses Ac contre le SARS-CoV-1	44
3.5.2.	Réponses Ac contre le MERS-CoV	47
3.5.3.	Réponses cellulaires	47
4.	Les plateformes vaccinales utilisées pour le développement des vaccins contre le SARS-CoV-2	65
4.1.	La question des antigènes	65
4.2.	Les plateformes vaccinales classiques	66
4.2.1.	Les vaccins vivants atténués (VVA)	67
4.2.2.	Les Vaccins Viraux Inactivés (VVI)	67
4.2.3.	Les vaccins protéiques	68
4.2.4.	Les vaccins VLP	69
4.3.	Les nouvelles plateformes vaccinales	69
4.3.1.	Les différents vecteurs viraux utilisés pour un vaccin anti-SARS-CoV-2	70
4.3.2.	Les vaccins ADN et ARN	73
5.	Immunité et vaccins muqueux	81
6.	L'impact potentiel des adjuvants	85
6.1.	Définition	85
6.2.	Classification selon les mécanismes d'action	85
6.3.	Bases immunologiques de l'action des adjuvants sur la réponse immunitaire et principaux mécanismes d'action	86
6.4.	Les adjuvants utilisés dans les vaccins actuels	87
6.4.1.	Les adjuvants aluminiques	88
6.4.2.	Les adjuvants non-aluminiques	90

6.4.3. Les limites des interprétations des effets immunologiques des adjuvants	93
6.4.4. Tolérance des adjuvants	94
Table des annexes	97
Références	107
Participants	131
Abréviations et acronymes	132

Préambule

Conformément à sa note de cadrage et à la saisine du Directeur général de la Santé du 13 juillet 2020, la HAS a été missionnée pour élaborer des recommandations intermédiaires sur les modalités possibles de mise en œuvre de la campagne de vaccination, en anticipation de l'arrivée d'un vaccin contre le SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome-related CoronaVirus-2*).

Afin d'anticiper et d'épauler l'expertise scientifique de la HAS, un groupe de travail, constitué de membres de la Commission technique des vaccinations, a été mis en place, afin de synthétiser les connaissances scientifiques (réponses immunologiques, données virologiques, modèles animaux, plateformes vaccinales notamment), nécessaires à la compréhension des résultats des essais cliniques de vaccination anti SARS-CoV-2.

Ce document est divisé en deux parties :

- Une partie courte (l'essentiel) fait la synthèse des données les plus pertinentes permettant de servir de canevas pour apprécier les résultats des essais cliniques ;
- Une partie longue développe les données présentées dans la partie initiale.

Ce document n'a pas vocation à présenter les résultats des essais cliniques sur les candidats vaccins contre le SARS-CoV-2 en cours de développement ; ceux-ci pourront faire l'objet d'une publication spécifique.

Les informations qu'il contient ne sont valables qu'à la date de sa publication et seront mises à jour régulièrement.

Dans ce document, nous avons utilisé comme dénomination : SARS-CoV-1 pour le SARS-CoV et SARS-CoV-2 pour le 2019-nCoV (dénomination initiale).

Méthodologie

Ce document de synthèse sur les connaissances relatives à la réponse immunitaire face à l'infection par le SARS-CoV-2 repose sur une revue systématique de la littérature.

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française dans les bases Embase, Lissa et Medline. Des recherches complémentaires ont été menées dans les bases de l'OMS, dans les bases de prépublications et sur le site de Science Direct.

Par ailleurs, pour compléter cette revue de la littérature, une veille scientifique quotidienne systématique a été mise en place dans les bases de prépublications BioRxiv et MEdRxiv, dans les bases Embase, Medline. Elle est encore en cours.

En parallèle une veille a été menée sur la presse scientifique ainsi qu'une veille médiatique.

Une surveillance régulière des essais cliniques et de leur développement est également effectuée.

Une actualisation régulière de la partie « L'essentiel » sera effectuée par le groupe de travail à partir des données publiées et du système de veille documentaire mis en place par le service Documentation et Veille scientifique de la HAS.

Les modalités plus techniques de la recherche documentaire sont consultables dans l'annexe 1 de ce document.

Ce document étant un document pédagogique, il a été amendé par le groupe de travail de la Task-Force Covid-19, et présenté à l'ensemble des membres de la Commission technique des Vaccinations, ainsi qu'au Collège d'orientation du 25 novembre 2020.

L'Essentiel

1.1. Le SARS-CoV-2 : structure et variabilité

Le SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome-related CoronaVirus-2*) appartient à la famille des *Coronaviridae*, genre *Betacoronavirus*, sous-genre *Sarbecovirus*. Six autres coronavirus peuvent d'infecter l'Homme : SARS-CoV-1, MERS-CoV, HKU1, OC43, NL63 et 229E.

Le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV sont proches phylogénétiquement du SARS-CoV-2, se répliquent au niveau du parenchyme pulmonaire et sont responsables comme lui d'une maladie avec atteinte pulmonaire potentiellement létale. Les autres coronavirus banals ne se répliquent qu'au niveau des VARS (Voies Aériennes Respiratoires Supérieures) et sont responsables de rhume. A noter que la particularité du SARS-CoV-2 est sa propension à se multiplier également au niveau des VARS.

Le SARS-CoV-2 est un virus enveloppé à capsidie hélicoïdale dont le génome est constitué d'ARN simple brin de polarité négative d'environ 30 000 nucléotides. La protéine S (spike) de surface se lie au récepteur cellulaire ACE2 qui est exprimé dans de nombreux tissus. Elle contient 2 sous-unités, S1 et S2, S1 incluant le domaine de liaison au récepteur (RBD, *receptor binding domain*) contenant le motif de liaison au récepteur (RBM, *receptor binding motif*). La sous-unité S2 contient le peptide de fusion. Le coronavirus humain le plus proche est le SARS-CoV-1 avec lequel il partage l'organisation génomique. La protéine S est, comme pour les virus SARS-CoV-1 et MERS-CoV, la principale cible de la réponse anticorps neutralisante.

Le SARS-CoV-2 est un virus susceptible de muter. Le taux de substitution/nucléotide/génome/an est estimé entre 8×10^{-4} et $8,1 \times 10^{-3}$. Ce taux est inférieur à celui observé pour le VIH ou le virus influenza, probablement en lien avec l'existence d'une activité correctrice.

Ceci a rapidement donné naissance à plusieurs clades¹ de ce virus. La classification actuelle en comporte 8 : V, L, S, G (scindé en GR, GH et GV) et O. En France ont circulé jusqu'à présent des souches des clades S, L, G, GR, GH, et GV. Les souches du clade GH y sont majoritaires. Dans le gène S, 5 principales mutations sont observées dans les souches circulant en France (L5S, D80Y, A222V, S477N et D614G).

Observée dès février 2020, la mutation D614G était présente dans quasiment tous les pays du monde et en France (>90% des souches). Depuis septembre 2020, les mutations A222V et S477N émergent en Europe, et en particulier en France (de 10 % à 30 % des souches, respectivement). Seule la mutation D614G entraînerait une augmentation de la transmissibilité des souches qui en sont porteuses. Elle entraînerait une augmentation de la capacité de torsion de la protéine, favorisant sa liaison au récepteur.

L'étude des infections par les coronavirus banals responsables de rhume permet de mieux comprendre la biologie des coronavirus et leur évolution face au système immunitaire. Ceci a été étudié uniquement sur le versant humoral de la réponse immunitaire.

La question en termes de vaccinologie est de savoir si le SARS-CoV-2 est à même de subir rapidement des modifications génétiques obligeant à un échappement à la réponse immunitaire, conduisant alors à modifier régulièrement les antigènes utilisés dans les vaccins. Les données dont nous disposons actuellement sont les suivantes :

¹ Un clade (du grec ancien : κλάδος / kládos, « branche »), aussi appelé groupe monophylétique, est un groupe d'organismes, vivants ou ayant vécu, comprenant un organisme particulier et la totalité de ses descendants.

1. *In vitro* : l'utilisation d'anticorps monoclonaux neutralisants en monothérapie entraîne une sélection rapide de mutants de résistance à la neutralisation (effet non retrouvé lors de l'utilisation de plusieurs anticorps, ce qui correspond à la situation attendue *in vivo* après infection ou vaccination)
2. *In vivo* : des souches virales présentant des mutations dans leur domaine RBD sont présentes à des niveaux très faibles parmi les populations infectées. La souche virale de SARS-CoV-2 mutée D614G qui est l'une des plus prévalentes à l'heure actuelle et semble, quant à elle, plus sensible à la neutralisation. A noter que l'on a pu montrer que des coronavirus responsables de rhumes comme le HCoV-229E acquièrent des mutations dans leur domaine RBD, induisant ainsi une résistance à la neutralisation par les anticorps. Dès lors, l'existence de réinfections régulières par ces coronavirus banals pourrait s'expliquer plus par la sélection de mutants résistant à la réponse adaptative, notamment humorale, que par la perte de cette réponse.

1.2. Modèles animaux

Idéalement, un modèle animal doit 1) être susceptible à l'infection par le pathogène cible, 2) permettre de reproduire la physiopathologie de l'infection chez l'Homme 3) disposer d'un système immunitaire dont les mécanismes ont été suffisamment étudiés et pour lesquels des systèmes d'études *in vitro* sont facilement disponibles 4) induire des réponses immunitaires qui ressemblent étroitement à celles obtenues chez l'Homme 5) être facile à entretenir.

Plusieurs animaux peuvent être infectés expérimentalement par le SARS-CoV-2. La souris, animal le plus utilisé en expérimentation préclinique, n'est pas susceptible à l'infection par le SARS-CoV-2, mais les souris transgéniques pour le récepteur ACE2 humain le sont. Parmi les rongeurs, le hamster semble le modèle le plus pertinent pour étudier l'infection à SARS-CoV-2, cet animal développant une pathologie respiratoire similaire à celle existant chez l'Homme.

Cependant, le modèle le plus intéressant et le plus étudié est le modèle primate non humain (NHP) macaque, sa plus grande proximité phylogénétique avec l'Homme étant un atout, notamment pour étudier les phénomènes d'immunopathologie (cf. plus loin). On a pu par ailleurs étudier dans ce modèle l'impact de l'âge, facteur déterminant de la sévérité de l'infection à SARS-CoV-2 chez l'Homme. Chez le NHP, lors d'un second challenge viral effectué 35 jours après le premier, on note :

1. Une protection contre la maladie pulmonaire induite par le SARS-CoV-2 ;
2. L'existence cependant d'une réplication virale au niveau de la sphère ORL, alors même que le virus est complètement contrôlé au niveau pulmonaire. Ceci tend à suggérer que l'immunité adaptative naturelle prévient plus la maladie que l'infection.

Les modèles animaux les plus pertinents pour l'exploration de la réponse immunitaire post-vaccinale au cours de l'infection à SARS-CoV-2 semblent dès lors être 1) le modèle souris pour une exploration rapide de la réponse immunitaire et notamment sur son versant humoral 2) le modèle NHP, dans un deuxième temps, pour s'assurer de l'efficacité clinique et de l'absence d'effet délétère de la réponse immunitaire.

Il est important de garder en mémoire qu'il existe, dans les modèles animaux, une corrélation entre la dose utilisée pour infecter l'animal et la sévérité de la maladie. Or, les études de protection vaccinale menées avec différents candidats n'utilisent pas toutes la même quantité de virus pour infecter les animaux. Il convient donc de bien analyser les résultats virologiques pour différencier l'existence d'une vraie réplication virale (présence d'ARN subgénomique) de la simple persistance locale de virus post-challenge (présence uniquement d'ARN génomique).

Les résultats des études menées dans les modèles animaux avec les principaux candidats vaccins anti-SARS-CoV-2 sont reportés dans le tableau 3.

1.3. Analyses immunologiques effectuées dans les essais cliniques de vaccin anti-SARS-CoV-2

Comme tous les virus, le SARS-CoV-2 est à l'origine d'une réponse adaptative humorale et cellulaire.

1.3.1. Réponse humorale quantitative et qualitative

La réponse humorale quantitative anti-SARS-CoV-2 a été évaluée par différents tests. Toutefois, à l'heure actuelle, elle repose essentiellement sur la réalisation de tests ELISA. Les antigènes viraux recommandés dans le cadre de tests sérologiques de dépistage de l'infection sont la protéine S (spike), son domaine RBD (Receptor Binding Domain), ou la protéine N (protéine de la nucléocapside). Dans le contexte des vaccins anti-SARS-CoV-2, les tests ELISA ne cibleront la plupart du temps que les deux premiers, car beaucoup de vaccins (cf. plus loin) ne contiennent comme antigène que la protéine S. Le résultat est exprimé en pourcentage de sujets positifs et en moyenne géométrique. Il n'existe pas de standardisation internationale de ces tests qui sont donc difficilement comparables d'une étude à l'autre.

Pour analyser la réponse humorale qualitative (anticorps neutralisant) anti-SARS-CoV-2, on a recours à l'utilisation de tests de microneutralisation. L'échantillon de sérum ou la solution d'anticorps à tester est diluée et mélangée à une suspension virale. Le tout est ensuite incubé, afin de permettre à l'anticorps de réagir avec le virus, puis réparti sur une culture de cellules de l'hôte sensibles au virus. La concentration de sérum nécessaire pour réduire le nombre de plages de lyse de 50% (PRNT50) par rapport au virus seul donne la mesure de la quantité d'anticorps et de leur efficacité.

Certaines équipes ont optimisé ce test en remplaçant un gène, l'ORF7 (Open Reading Frame 7), du SARS-CoV-2 par celui codant la nanoluciférase (NLuc) ou le mNeonGreen, permettant ainsi une détection plus simple et rapide de l'infection après culture sur les cellules (5h). Ce type de tests nécessite de recourir à un laboratoire de type BSL3 (Biosecurity Level 3)². Pour éviter ce problème, certaines équipes utilisent des tests de pseudoneutralisation. On remplace alors le SARS-CoV-2 par un pseudovirus, c'est-à-dire un virus autre (virus de la stomatite vésiculeuse [VSV] par exemple ou lentivirus), dont le génome a été délété du gène de sa protéine d'enveloppe et remplacé par le gène codant la protéine spike du SARS-CoV-2. Le reste de la procédure reste identique. Les tests ne peuvent être comparés d'une étude à l'autre car :

1. Il n'existe pas de standardisation internationale ;
2. Les virus ne sont pas les mêmes (virus ou pseudo-virus) ;
3. Les souches de SARS-CoV-2 (ou de la protéine spike) peuvent être différentes d'une étude à l'autre ;
4. Les lignées cellulaires peuvent également varier (Vero : cellules de rein de singe, Huh7 : cellules d'hépatocarcinome humain,...). Afin de pallier ce problème, les auteurs comparent en général les résultats obtenus post-vaccination avec ceux obtenus après infection naturelle, mais encore faut-il que les prélèvements choisis soient comparables en termes de calendrier de prélèvement et de sévérité de la maladie présentée par les patients.

² Laboratoire de sécurité confiné dans lequel sont manipulés les agents infectieux dont la contagion peut se faire par l'air et qui peuvent avoir des conséquences sérieuses voire mortelles.

Cette réponse humorale est en général évaluée 4 semaines après la vaccination.

1.3.2. 1.3.2 Réponse immune cellulaire

La réponse lymphocytaire T anti-SARS-CoV-2 semble également importante pour contrôler l'infection. Le test le plus rapide mais dès lors le plus rudimentaire ou basique pour apprécier la réponse lymphocytaire T est l'ELISPOT IFN- γ . Le principe de ce test est de mesurer les réponses cellulaires spécifiques vis-à-vis d'un antigène en quantifiant le nombre de cellules T produisant de l'IFN- γ . On recueille les lymphocytes T que l'on stimule avec des peptides chevauchants correspondant à la protéine d'intérêt (protéine spike dans le cas des vaccins anti-SARS-CoV-2 actuels). Puis, après 24h, on analyse la production d'IFN- γ par ces cellules grâce à une technique ELISA avec un anticorps anti-IFN- γ . On peut effectuer un tri des lymphocytes T CD4+ et lymphocytes T CD8+ avant de réaliser le test pour analyser quels lymphocytes produisent de l'IFN- γ , mais ceci complexifie l'examen et n'est pas fait en routine. Pour mieux analyser et séparer les réponses lymphocytaires T CD4+ et CD8+, on préfère recourir à la cytométrie de flux.

L'analyse de la production de cytokines en cytométrie de flux (*intracellular staining* [ICS] des anglo-saxons) est une technique plus onéreuse nécessitant de disposer d'un cytomètre en flux. Toutefois, elle permet d'identifier la cellule productrice de telle ou telle cytokine. La phase préparatoire est la même que pour le test précédent et les lymphocytes sont incubés avec des peptides chevauchants pour les antigènes d'intérêt. Après 24h, on pourra analyser les lymphocytes et caractériser les lymphocytes T CD4+ ayant une polarisation Th1 (production d'IFN- γ et /ou d'IL-2 mais pas d'IL-4, IL-5 et ou IL13) de ceux ayant une polarisation Th2 (production d'IL-4, IL-5 et/ou IL-13 et CD40L). Pour les lymphocytes T CD8+, on utilisera un autre pool de peptides de plus petite taille et on regardera la production d'IL-2, de TNF α , d'IFN- γ , voire l'expression de CD103a, de perforine ou de granzyme (ces dernières protéines étant associées à leur capacité à détruire les cellules infectées). Comme pour les anticorps, ces tests ne sont pas standardisés au niveau international et les résultats ne sont donc pas comparables quantitativement d'une étude à l'autre, tout au plus peut-on comparer les proportions relatives des réponses Th1/Th2 pour les lymphocytes T CD4+.

La réponse lymphocytaire T est en général évaluée 2 semaines après la vaccination.

1.4. Immunité et vaccins contre les coronavirus hors virus de type SARS-CoV-1 et MERS-CoV

L'existence d'une composante immunopathologique semble être une des caractéristiques importantes des infections à coronavirus et notamment de la COVID-19 qui en découle, responsable de formes graves, que ce soit chez l'Homme ou chez l'animal ; elle pose un rationnel à l'utilisation de traitements immunomodulateurs, soit à visée antivirale (interférons de type 1), soit à visée anti-inflammatoire (corticoïdes) dans les formes modérées à sévères.

Ce point est important car cette réponse immunitaire innée a des effets sur la réponse adaptative et dès lors il est difficile de faire un parallèle strict entre la réponse adaptative observée après une infection naturelle et celle attendue après vaccination.

L'étude de la réponse immunitaire après infections par les coronavirus animaux mettent en évidence :

1. La nécessité d'une réponse anticorps et lymphocytaire T pour assurer la protection,
2. La décroissance rapide de la réponse immunitaire notamment humorale,

3. Le rôle parfois délétère de cette réponse immunitaire avec, comme modèle, l'infection par le virus de la péritonite infectieuse du chat caractérisée par un phénomène d'ADE (antibody dependant enhancement) qui aboutit à une propagation de l'infection *via* l'infection des macrophages.

Comme indiqué précédemment, les coronavirus humains responsables de rhumes (HKU1, OC43, NL63 et 229E) sont des virus qui se multiplient au niveau des voies aériennes respiratoires supérieures (VARs) (comme le SARS-CoV-2), mais pas au niveau du parenchyme pulmonaire (contrairement aux SARS-CoV-1, SARS-CoV-2 et MERS-CoV). La réponse adaptative contre ces virus a été étudiée sur son versant humoral, aucune donnée n'étant disponible sur la réponse lymphocytaire. L'infection par ces virus induit une réponse humorale systémique (IgG) et muqueuse (IgA) avec présence d'anticorps neutralisants. La réponse muqueuse est, contrairement à la réponse systémique, associée à un contrôle de la multiplication du virus au niveau des VARs. Malgré une séroprévalence élevée dans la population adulte, ces virus sont responsables d'épidémies régulières et cycliques. Les données cliniques, notamment lors des épreuves de challenge viral de volontaires, semblent indiquer que ce phénomène est plus lié à l'apparition de mutants viraux moins sensibles à la réponse neutralisante, qu'à la perte de cette réponse.

Il est à noter qu'il existe des vaccins contre plusieurs coronavirus animaux (ceux-ci sont répertoriés dans le tableau 4), mais qu'il n'existe pas de vaccin à l'heure actuelle contre les coronavirus humains responsables de rhumes.

1.5. Immunité et vaccins contre le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV

Les SARS-CoV-1 et MERS-CoV ont été à l'origine d'épidémies responsables d'une mortalité élevée mais fort heureusement rapidement contrôlées. Suite à ces épidémies, des efforts importants ont été mis en place pour caractériser la réponse immunitaire contre ces virus, parallèlement au développement des premiers candidats vaccins.

1.5.1. Réponse immune humorale

Concernant la réponse humorale contre ces virus, on note la présence d'une activité anticorps neutralisante dirigée contre la protéine S, dont on a pu montrer la fonction protectrice chez l'animal (transfert passif d'anticorps et vaccination).

La concomitance de l'apparition des anticorps avec celle des signes pulmonaires chez les patients, ainsi que la corrélation positive entre le taux d'anticorps et la sévérité de l'infection a fait envisager l'hypothèse que les anticorps puissent être impliqués dans les mécanismes physiopathologiques à l'origine de l'atteinte pulmonaire. Ce phénomène d'ADE uniquement suspecté au départ chez l'Homme a été retrouvé dans plusieurs études vaccinales effectuées chez la souris et a pu être démontré dans un modèle vaccinal anti-SARS-CoV-1 chez le macaque. La vaccination avec un vaccin MVA (Modified Vaccine Ankara) (cf. plus loin) exprimant la protéine spike induisait dans ce modèle une réponse anticorps neutralisante, mais aggravait les lésions pulmonaires après challenge viral. Cette activité délétère des anticorps a pu être reliée à une activation des macrophages *via* leur récepteur au fragment Fc des immunoglobulines. Cet effet d'activation des macrophages a pu également être observé *in vitro* avec des sérums de sujets ayant présenté des formes graves de la maladie. On note dans d'autres études *in vitro*, un possible rôle de la quantité d'anticorps neutralisants sur cet effet délétère, cet effet dose-dépendant n'ayant pas été observé *in vivo* dans le modèle cité précédemment. La spécificité des anticorps semble également importante dans la survenue de cet effet ADE. Les anticorps ayant un effet délétère étant dirigés contre certains épitopes situés en dehors du domaine RBD, ceci a conduit

certain auteurs à choisir cette seule partie de la protéine spike comme structure antigénique pour un vaccin.

Enfin, si la durée de persistance des anticorps neutralisants après infection par le SARS-CoV-1 a pendant longtemps été considérée comme relativement courte (2 à 3 ans) - de même que la réponse B mémoire - des données très récentes remettent en question cette notion par la mise en évidence de la présence d'anticorps neutralisants plus de 10 ans après l'infection.

1.5.2. Réponse immunitaire cellulaire

Les études concernant la réponse lymphocytaire T contre ces virus indiquent que celle-ci est importante dans la guérison et la protection contre l'infection. Plusieurs auteurs insistent sur l'importance d'analyser la balance Th1/Th2 de la réponse T CD4+, une réponse majoritairement Th1 étant associée à un meilleur pronostic. Certains auteurs ont suggéré toutefois que ce soit la réponse Th17 et non la réponse Th2 qui soit pathologique. Ceci a évidemment un impact évident dans le choix d'éventuels adjuvants vaccinaux. Ainsi, il a pu être montré que l'utilisation d'aluminium dans des modèles animaux, connu pour polariser la réponse T CD4+ vers la voie Th2, n'était pas associée à une moins bonne réponse, confortant l'hypothèse d'un rôle plutôt possiblement délétère de la voie Th17. Enfin, la durée de persistance de la réponse lymphocytaire T semble longue (>10 ans).

Les résultats de plusieurs essais vaccinaux de phase 1 contre ces virus ont été rapportés avec différents candidats vaccins, en particulier pour le MERS-CoV. Ces essais cliniques mettent en évidence une bonne tolérance globale des vaccins, un taux de séroconversion élevé à la fin des schémas vaccinaux mais avec un effet qui s'épuise au cours du temps et une faible induction d'anticorps neutralisants (25 à 40% et moins de 10% à 1 an), la réponse lymphocytaire T (appréciée en ELISPOT IFN- γ) semblant plus importante et se maintenir plus longtemps. On ne dispose pas d'étude de phase 2/3 permettant de s'assurer de l'efficacité de ces stratégies et donc de la transposabilité des résultats immunologiques en terme clinique. Ces résultats sont résumés dans le tableau 6.

1.6. Immunité contre le SARS-CoV-2

Les données actuellement disponibles indiquent que l'infection par le SARS-CoV-2 s'accompagne d'une réponse anticorps essentiellement de type IgA et IgG, la réponse IgM semblant moins importante. Le taux de séroconversion chez les patients symptomatiques est élevé avec un pic à J14. Chez les patients moins symptomatiques, le pic d'anticorps semble décalé chez ces patients, comme cela est le cas au cours de l'infection par le SARS-CoV-1. Si la réponse anticorps est dirigée contre de nombreuses protéines, la réponse neutralisante semble essentiellement dirigée contre la protéine spike. On retrouve une bonne corrélation entre le dépistage des anticorps en ELISA et une activité neutralisante de ceux-ci dans toutes les études où cette corrélation a été recherchée. La spécificité des anticorps semble élevée et aucune réactivité croisée n'a été retrouvée avec des infections avec des coronavirus banals, alors qu'elle existe dans le cadre d'une infection passée par le SARS-CoV-1. Les facteurs corrélés positivement au pourcentage de séroconversion et au taux d'anticorps sont la sévérité de la maladie, l'âge et le sexe masculin. Aucun effet de type ADE n'a été mis en évidence à l'heure actuelle au cours de l'infection par le SARS-CoV-2. A noter enfin qu'on peut ne pas observer d'induction d'anticorps spécifiques chez les patients pauci ou asymptomatiques chez lesquels on a pu mettre en évidence toutefois une réponse IgA muqueuse et/ou une réponse lymphocytaire T.

Une réponse lymphocytaire T à la fois CD4+ et CD8+ est retrouvée chez les patients infectés par le SARS-CoV-2. Elle est plus fréquente que la réponse anticorps, étant retrouvée également chez les patients asymptomatiques. Des données récentes indiquent que cette réponse T est large, dirigée

contre toutes les protéines du virus ; la réponse T CD4+ est plus large et plus importante dans les formes sévères, l'inverse étant observé dans les formes modérées avec, cette fois-ci, une prépondérance de la réponse T CD8+. La réponse lymphocytaire T CD4+ protectrice est de type Th1, cependant qu'une réponse Th17 est visiblement délétère et associée aux manifestations pulmonaires de l'infection. Contrairement à ce qui est observé pour les anticorps, on retrouve une réactivité croisée notable de la réponse spécifique T CD4+ anti-SARS-CoV-2, et de manière moins importante T CD8+, à l'égard des coronavirus banals. On ne connaît pas l'impact de cette réactivité croisée mais, s'il s'avérait qu'elle soit efficace et confère un certain degré de protection contre l'infection ou contre la sévérité de la maladie, ceci aurait un impact notable sur le risque de résurgence de nouvelles flambées épidémiques. Ceci pourrait conduire également à réfléchir à la diversité des antigènes à inclure dans un vaccin, antigènes qui ne devraient pas se limiter à ceux présents uniquement dans la protéine S.

Alors qu'on dénombre actuellement plus de 53 millions de cas de COVID-19 à travers le monde, le nombre de cas rapportés de réinfection reste anecdotique. Ces réinfections clairement documentées, au nombre d'une dizaine, parce qu'elles impliquent des virus différents lors des deux épisodes infectieux - ont été observées chez des sujets plutôt jeunes non immunodéprimés. L'absence d'études immunologiques couplées aux études virologiques ne permet malheureusement pas de connaître à l'heure actuelle les raisons de ces réinfections : absence de réponse adaptative initiale, perte de celle-ci ou sélection de variants viraux résistants à cette réponse. Cependant, d'éventuelles réinfections asymptomatiques avec des souches proches ou non de celles de la primo-infection n'ont pas été mises en évidence, puisque non étudiées.

1.7. Les plateformes vaccinales contre le SARS-CoV-2

Fin octobre 2020, selon la liste de l'OMS, près de 200 candidats vaccins contre le SARS-CoV-2 sont en cours de développement, faisant appel à huit plateformes technologiques différentes : vaccins vivants atténués et vaccins inactivés, vaccins à base de sous-unités protéiques, vaccins à partir du matériel génétique viral (ARN et ADN), vaccins par vecteur viral répliquatif ou non répliquatif, et vaccins à pseudo-particules virales « virus-like particles », les plateformes ADN et ARN n'ayant jamais été à l'origine de vaccins encore commercialisés chez l'Homme

Dans le cas du SARS-CoV-1, il a été démontré que les anticorps dirigés contre la protéine S peuvent neutraliser le virus et prévenir l'infection (cf. chapitre). Dès lors, l'immense majorité des vaccins contre le SARS-CoV-2 en cours de développement contiennent au moins une partie de la protéine S qui peut être limitée au seul domaine S1 ou à la RBD (cf. plus loin).

Même si des plateformes plus récentes ont largement été utilisées dans les stratégies de développement de vaccin anti-SARS-CoV-2, plusieurs équipes ont eu recours à l'utilisation des plateformes classiques : vaccins vivants atténués (VVA), vaccins inactivés (VI) et vaccins protéiques (VP). Ce sont des vaccins dont les modalités de fabrication ne sont pas très différentes de celles utilisées pour des vaccins dirigés contre d'autres pathogènes. . Comme ils nécessitent pour leur fabrication des laboratoires de type BLS3, les VVA ne sont pas à un stade avancé de développement clinique. Il existe actuellement 5 candidats vaccins de type VI contre le SARS-CoV-2 en phase clinique de développement. Un VI adjuvanté avec de l'aluminium est actuellement testé dans un essai de phase 3. Les différents VP vont varier en fonction :

1. du type de cellules sur lesquels ils sont produits (production en système eucaryote de type cellule d'insecte, levure, voire sur des plantes ou production en système procaryote comme *E. Coli*), les protéines produites sur les systèmes eucaryotes étant les plus proches de celles produites *in vivo* ;

2. de la structure de la protéine utilisée (protéine S ou seul domaine RBD de cette protéine afin de limiter au maximum les risques d'ADE (cf. plus haut). Des vaccins à pseudo-particules virales (VLP) sont également en cours de développement, la structure de ces VLP permet d'augmenter l'immunogénicité des VP. A noter que les VP nécessitent d'être adjuvantés (cf. plus loin).

La technologie de ces vaccins classiques est bien connue et leur production à grande échelle selon les normes de bonnes pratiques de fabrication est relativement simple pour les VP.

Dans le contexte des pathologies émergentes et/ou réémergentes, et cela a été par exemple le cas avec les virus Ebola ou Zika, il est apparu souhaitable d'avoir des plateformes pouvant être facilement utilisées afin de pouvoir développer rapidement des vaccins capables d'induire des réponses humorales et cellulaires, et ne nécessitant pas de doses importantes. Les vaccins sont alors fondés sur l'utilisation non plus des virus entiers ou de certaines de leurs protéines, mais sur celle des fragments géniques codant les protéines d'intérêt. On en distingue deux types : les vecteurs viraux et les vaccins nucléiques (ADN et ARN).

Ces vaccins reposent sur l'utilisation des séquences d'acides nucléiques correspondant aux structures antigéniques susceptibles de déclencher une réponse immunitaire protectrice. Ils ont l'avantage :

1. d'être spécifiques, comme les VP, en n'utilisant que la partie d'intérêt immunogénique des virus ;
2. de permettre toutes les modifications post-traductionnelles des protéines normalement observées *in vivo* comme avec les vaccins protéiques produits sur systèmes eucaryotes ;
3. d'être des potentielles plateformes universelles avec une production standardisée ;
4. et de nécessiter *a priori* d'une moindre quantité de vaccins, les protéines étant produites *in vivo* en quantité suffisante *via* la mise en fonction du système de production cellulaire.

Pour les vecteurs viraux, leur mécanisme de construction est relativement simple. Il consiste à utiliser un virus peu pathogène (en particulier un adénovirus) ou que l'on aura rendu non pathogène (MVA, VSV, virus de la rougeole) et d'intégrer dans son génome la séquence codant la protéine d'intérêt (protéine spike dans le cas du SARS-CoV-2). Ces vaccins étant des virus, ils ne nécessitent pas d'être adjuvantés. Avec ces vaccins, la réponse contre le vecteur lui-même peut poser problème et conduire à une diminution de la réponse contre l'antigène d'intérêt, ceci ayant été clairement démontré avec les vecteurs adénoviraux mais non avec les autres vecteurs viraux. Les vecteurs viraux les plus avancés dans leur développement utilisent des adénovirus (Ad). Ces virus – dont il existe plus de 90 sérotypes – sont stables génétiquement, peuvent infecter les cellules dendritiques, sont assez faciles à modifier et ont une grande stabilité thermique. Ces virus sont modifiés en vue de leur utilisation comme plateforme vaccinale et sont donc ainsi rendus non répliquatifs. Trois adénovirus sont actuellement utilisés :

1. L'Ad5 qui a comme avantage d'avoir été largement testé comme vecteur viral (vaccin anti-virus Ebola, anti-VIH notamment) ; il s'agit cependant d'un sérotype fréquent chez l'Homme, et dès lors, les réponses immunologiques anti-SARS-CoV-2 sont donc à interpréter en fonction du taux d'anticorps anti-Ad5 ;
2. L'Ad26 : cette plateforme a été utilisée pour un vaccin anti-virus Ebola et est également utilisée en phase 2b/3 pour un vaccin anti-VIH et un vaccin anti-VRS ;
3. Un adénovirus du chimpanzé, le ChAdOx1 pour lequel on dispose de beaucoup moins de données cliniques chez l'Homme ; en effet, en dehors des résultats des phases 1/2 pour un vaccin anti-SARS-CoV-2, seuls sont disponibles les résultats d'un essai de phase 1 mené avec un vaccin anti-MERS-CoV.

Ces trois plateformes adénovirales sont actuellement utilisées pour des vaccins anti-SARS-CoV-2 dans des essais de phase 3.

Les premiers vaccins ADN ont été mis au point il y a une trentaine d'années. Les vaccins ADN ont l'avantage d'être assez simples à produire et d'induire une réponse humorale et cellulaire. Ils induisent des réponses humorales et cellulaires mais de faible intensité nécessitant de répéter les injections vaccinales pour une efficacité optimale. Ils peuvent être fabriqués à faible coût et sont très stables, ce qui représente des atouts non négligeables. S'il n'existe pas de vaccin humain ayant une AMM, des vaccins vétérinaires faisant appel à cette technologie sont disponibles.

Les vaccins ARN sont sans doute les moins avancés en termes d'ancienneté de développement mais ont l'avantage d'un profil de sécurité optimal (du fait de leur traduction dans le [cytosol](#) des [cellules](#), ils ne doivent pas pénétrer dans les [noyaux](#) cellulaires et le risque de voir leur [matériel génétique](#) incorporé au [génome](#) de l'[hôte](#) est écarté) et d'être par essence particulièrement inducteurs de signaux de danger au sein de la cellule hôte. Il existe deux types de vaccin ARN en cours de développement : 1) des petites molécules d'ARNm non amplificatrices qui codent l'antigène d'intérêt, et 2) de plus grandes molécules d'ARNm auto-amplificatrices qui codent un réplicon viral d'un alphavirus en plus de l'antigène d'intérêt. Si ces vaccins restent pour l'instant assez peu étudiés chez l'Homme, des résultats prometteurs ont été publiés dans le cadre du développement d'un vaccin anti-SARS-CoV-2 et deux candidats développés sont actuellement en phase 3.

Si ces nouvelles plateformes sont intéressantes, l'expérience de leur utilisation chez l'Homme reste toutefois limitée.

1.8. Les adjuvants utilisés avec les candidats vaccins contre le SARS-CoV-2

Contrairement aux vaccins vivants atténués, aux vaccins ARN et à ceux fondés sur l'utilisation d'un vecteur viral, les autres types de vaccins peuvent nécessiter l'ajout d'un adjuvant pour une efficacité optimale.

Les adjuvants ayant déjà été utilisés lors du développement des vaccins contre les autres coronavirus pathogènes chez l'Homme, sont : l'aluminium, le MF59, Le Montanide ISA51/CpG, le Matrix-M™, le Q21, l'AS01/AS03n, le Delta inulin (Advax™)+CpG, les ligands de Toll-like Receptor (TLR), le rOV-ASP-1 et la Protolline. Parmi les 42 candidats vaccins contre le SARS-CoV-2 en phase clinique de développement, au moins 11 d'entre eux comportent des adjuvants : aluminium, Matrix-M™, Advax™, MF59, AS04 et CpG 1018.

Les adjuvants peuvent avoir plusieurs fonctions, notamment la capacité à augmenter l'immunogénicité des vaccins, et à en moduler et orienter la réponse immunitaire. L'induction préférentielle d'une réponse lymphocytaire T CD4+ de type Th1, ainsi que l'induction d'une réponse lymphocytaire T CD8+ semblent intéressantes dans la protection ou le contrôle des infections par les coronavirus et notamment par le SARS-CoV-2. Parmi les adjuvants ci-dessus, on notera que les dérivés de l'aluminium et le MF59 induisent préférentiellement une réponse Th2, l'AS04 et le CpG 1018 préférentiellement une réponse Th1, et Matrix-M™ et Advax™ des réponses Th1/Th2 équilibrées. Il est important de noter que l'aluminium a pu donner des résultats intéressants avec des vaccins anti-SARS-CoV-1 malgré sa polarisation Th2 considérée comme défavorable ; cet adjuvant a par ailleurs l'avantage d'une utilisation ancienne avec un profil de sécurité bien connu, ce qui n'est pas le cas pour les autres.

1.9. Immunité et vaccination muqueuses

L'immunité muqueuse joue un rôle fondamental dans le contrôle des infections. Le rôle de cette immunité est toutefois prioritairement un rôle tolérogène vis-à-vis des antigènes alimentaires au niveau digestif. Les réponses humorales antivirales dans les poumons sont dominées par les IgG qui diffusent depuis le sang, alors que ce sont les IgA sécrétoires produites localement qui assurent cette fonction au niveau des VARS. Les principaux candidats vaccins contre le SARS-CoV-2 sont administrés par voie intramusculaire et ne peuvent induire efficacement la production des IgA sécrétoires. Dès lors, leur effet se portera *a priori* plus sur le blocage de la multiplication virale au niveau pulmonaire (sévérité de la maladie) qu'au niveau des VARS. Ceci a été mis en évidence dans les modèles animaux (cf. tableau 3).

Les problématiques principales auxquelles est confronté le développement d'un vaccin administré par voie muqueuse sont liées aux phénomènes d'immunotolérance. Les surfaces muqueuses sont exposées continuellement à des antigènes, ce qui entraîne le développement d'un micro-environnement tolérant envers les antigènes. Malgré cela, plusieurs candidats vaccins visant à induire une réponse muqueuse ont été développés contre des coronavirus animaux, MERS-CoV et SARS-CoV-1. Les études menées avec ces vaccins chez l'animal mettent en évidence l'induction d'une réponse muqueuse et une protection contre l'infection quand elle a été analysée, permettant de démontrer la pertinence de ces stratégies. Si plusieurs candidats vaccins « muqueux » anti-SARS-CoV-2 ont montré leur efficacité dans les modèles animaux, seuls deux vaccins faisant appel à l'utilisation d'un vecteur viral non réplicatif (Ad5) sont actuellement en phase 1 de développement chez l'Homme.

1.10. Les résultats des essais de phase 1 et/ou 2 publiés

A ce jour, des résultats d'essais de phase 1 et/ou 2 ont été publiés pour 11 candidats vaccins. Les principaux résultats sont résumés dans le tableau 1.

Il s'agit souvent de résultats intermédiaires, avec une durée de suivi courte, limitant l'interprétation des résultats ; des essais de phase 3 devront être menés, incluant notamment des sujets à risque de forme grave de Covid-19, afin de confirmer les données de tolérance et d'immunogénicité et de permettre d'évaluer l'efficacité vaccinale.

Actuellement, au 12/11/2020 selon la liste OMS, 48 candidats vaccins sont en phase clinique de développement, dont 11 candidats en phase 3, correspondant à 24 essais en cours de réalisation (cf. annexe 1).

Pour les candidats vaccins en phase 3 de développement, 4 sont des vecteurs viraux non réplicatifs (vaccin d'AstraZeneca et de Janssen, vaccin russe de Gamaleya et vaccin chinois de Cansino), 4 sont des vaccins inactivés (trois vaccins chinois et un vaccin indien), 2 des vaccins à ARN (vaccins de Moderna et de BioNTech/Pfizer) et le dernier, un vaccin protéique (vaccin de Novavax).

A ce jour, tous les essais de phase 3 menés concernent des vaccins qui s'administrent par voie intramusculaire et selon un schéma en 2 doses avec des intervalles variables (0-14 jours, 0-21 jours ou encore 0-28 jours), sauf pour les candidats vaccins ChadOx1 d'AstraZeneca qui s'administre en 1 dose dans 3 des 5 essais menés actuellement et l'Ad5 nCov de Cansino qui s'administre en 1 dose dans les 2 essais menés.

Les essais de phase 3 n'incluent actuellement que des sujets adultes. Un essai pour le ChadOx1 de l'Université d'Oxford/AstraZeneca prévoit d'inclure des enfants entre 5 et 12 ans et l'essai sur le BNT162 de BioNTech/Pfizer prévoit d'inclure des sujets à partir de 16 ans.

Concernant les sujets de plus de 55 ans, la plupart des essais n'indiquent pas de limite supérieure d'âge pour le recrutement. De manière spécifique, 5 essais indiquent recruter des sujets de plus de 60 ans et, a contrario, 4 essais n'incluent pas de sujets de plus de 55 ou 60 ans.

Tableau 1 : Candidats vaccins pour lesquels des résultats d'essai de phase 1 et/ou 2 ont été publiés jusqu'à ce jour

Candidat Vaccin	Sponsor	N injection (Ni) N Volontaires (Nv)	Tolérance(*)	Immunogénicité	Stabilité	Référence
Ad5 nCoV	Cansino Biologics	Ni = 1 (3 doses ≠) Nv = 108	Fièvre, douleur locale EIG : fièvre+	ELISA D28 : 100% (HD)	?	Zhu <i>et al.</i> , 2020 (1) Ramamamy <i>et al.</i> , 2020 (2)
AZD1222 (ChadOx1)	Oxford Université Astra-Zeneca	Ni = 1 (n=2 pour 10) Nv = 543	Fatigue, douleur locale EIG : fièvre, céphalées	ELISA peak D28 Nab D28 : 100% (n=35) ELISPOT peak D28	?	Folegatti <i>et al.</i> , 2020 (3)
CoronaVac	Sinovac	Ni =2 (D0, D21) Nv = 243	Fièvre, douleur locale Pas d'EIG	ELISA D35 100% Nab D35 : 97 %	?	Xia <i>et al.</i> , 2020 (4)
mRNA-1273	Moderna	Ni = 2 (D0, D28) (3 doses ≠) Nv = 45	Fatigue, fièvre, douleur locale EIG : frissons, fatigue	ELISA D57 = Convalescent Nab D57 =Convalescent T cell Th1 profile	-20°C	Jackson <i>et al.</i> , 2020 (5) Anderson <i>et al.</i> , 2020 (6)
BNT162 mRNA (RBD seul)	Pfizer, BioNTech	Ni = 2 (D0, D21) (3 doses ≠) Nv = 36	Fatigue, douleur locale, EIG : fièvre	ELISA D35 = Convalescent Nab D35 =Convalescent	-80°C Puis 2-8°C si reconditionné	Mulligan <i>et al.</i> , 2020 (7)
NVX-CoV2373 (protein+ adj)	Novavax	Ni =2 (D0, D21) Nv = 108 (83 vaccine+adj, vaccine) 25	Bégin EIG : céphalées, asthénie	ELISA D35 V+Ad>V> Convalescent Nab D35 V+Ad>V> Convalescent T cell Th1 profile	-80°C pdt des années 1 mois à 2-8°C	Keech <i>et al.</i> , 2020 (8)

Ad26	Janssen	Ni =2 (D0, D56) (2 doses ≠) Nv = 1045	Douleur locale, fièvre, céphalées, fatigue, myalgies EIG : malaises, fièvre, vertiges	ELISA D28 : 99% Nab D : 92% (18-55 ans) à 100% (≥65 ans) T cell Th1 profile, rapport Th1/Th2 = 1 à 68,5	Distribution à 2-8°C	Sadoff <i>et al.</i> , 2020 (9)
Virus Sputnik V (rAd26-S+rAd5-2)	Gamaleya	Ni = 1 Nv = 36	Fièvre, Céphalées Pas d'EIG	ELISA D21 : 100% Nab D42 : 100% (pour rAd26-S+rAd5-2 seulement) ; = serum convalescents T cell Th1 profile ?	?	Logunov <i>et al.</i> , 2020 (10)
V. inactivé	Wuhan	Ni = 3 (D0, D28, D56) Nv = 96	Douleur, fièvre Pas d'EIG	ELISA peak D42 / ELISA D42 : 100% Nab peak D70 / Nab : 97.6% (medium dose, phase2) T cell Th profile : absence de réponse cellulaire observée	?	Xia <i>et al.</i> , 2020 (4)
BBIBP-CorV V. inactivé	Beijing Institute of Biological Products, Sinopharm	Ni = 1 ou 2 (D0, D14 ou D0, 28) Nv = 192 (phase1) Nv = 448 (phase2)	Fièvre, fatigue Pas d'EIG	ELISA D28 : 100% (18-59ans) / 92% (≥60 ans) pour la dose 4µg Nab peak D42 (phase1) : Nab D42 :100%	?	Xia <i>et al.</i> , 2020 (11)
Vaccin VLP	Medicago	Ni = 2 (D0, D21) Nv = 180	Douleur, céphalées, fatigue EIG : fatigue(AS03+)	ELISA D42 : 99,1% Nab peak D42 Nab D42 : 91.3% (PRNT) T cell Th1/Th2 profile	?	Ward <i>et al.</i> , 2020 (12)

(*)EIG : évènement indésirable grave à partir du grade 3, sans prise en compte du niveau d'imputabilité

Synthèse détaillée

1. Le SARS-CoV-2 : Structure et variabilité

1.1. Classification

Le SARS-CoV-2 appartient à la famille des *Coronaviridae*, sous-famille des *Orthocoronavirinae*, genre *Betacoronavirus*, sous-genre *Sarbecovirus*, espèce Severe Acute Respiratory Syndrome-related CoronaVirus (*Coronaviridae* Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses 2020 (13)). Il existe sept coronavirus susceptibles d'infecter l'Homme, SARS-CoV-1, MERS-CoV, SARS-CoV-2, HKU1, et OC43 sont des *Betacoronavirus*, NL63, 229E sont des *Alphacoronavirus*.

Conclusion

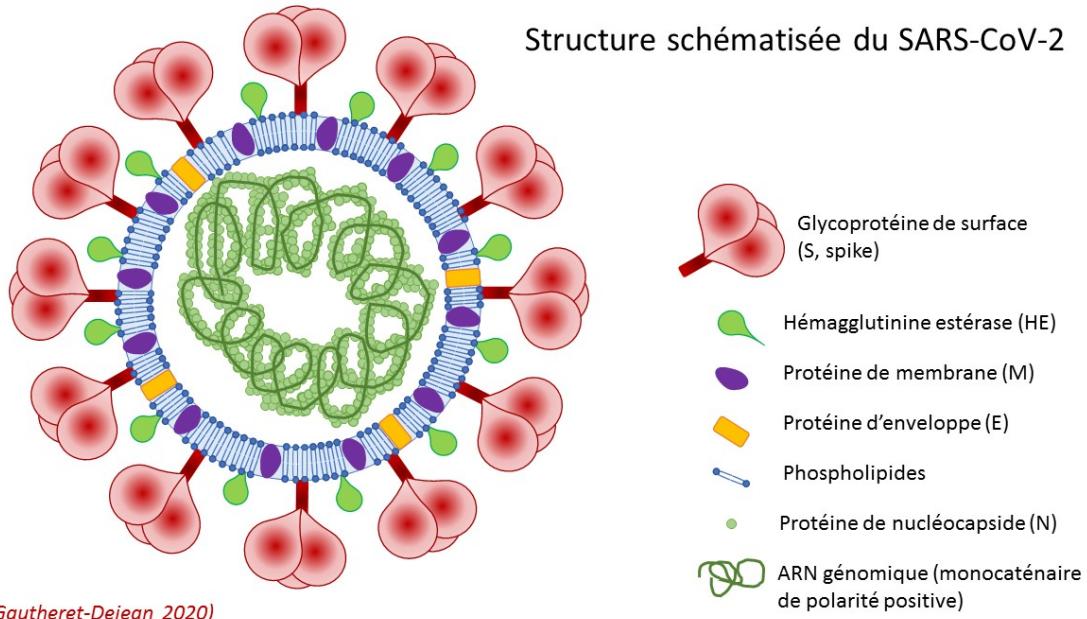
Le SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome-related CoronaVirus-2) appartient à la famille des *Coronaviridae*, genre *Betacoronavirus*, sous-genre *Sarbecovirus*. Six autres coronavirus peuvent d'infecter l'Homme (SARS-CoV-1, MERS-CoV, HKU1, OC43, NL63 et 229E).

1.2. Structure du virion et de son génome

Le virion de SARS-CoV-2 comporte de l'intérieur de la particule vers l'extérieur : le génome constitué d'une molécule d'ARN simple brin de polarité positive, directement traduisible en protéines, entouré d'une capsidie de type hélicoïdale formée de protéine N, une matrice formée de protéine M puis une enveloppe lipidique dans laquelle sont enchâssées la glycoprotéine S (spike), la petite protéine d'enveloppe (E) et l'hémagglutinine-estérase (HE) (cf. figure 1) (13). La protéine S contient deux sous-unités, S1 et S2. Dans la sous-unité S1, se trouve le domaine de liaison au récepteur (RBD, *receptor binding domain*) contenant le motif de liaison au récepteur (RBM, *receptor-binding motif*). La sous-unité S2 contient notamment le peptide de fusion. Cette protéine S induit la production d'anticorps neutralisants par le sujet infecté. Les RBD du SARS-CoV-2 et du SARS-CoV-1 sont similaires avec des insertions nucléotidiques communes qui interagissent avec le principal récepteur du virus qui est l'ACE2. Néanmoins, le pourcentage d'homologie de séquence nucléotidique entre SARS-CoV-1 et SARS-CoV-2 n'est que d'environ 50 % dans le RBM alors qu'il est d'environ 80 % dans le reste du RBD.

Le génome d'une longueur d'environ 29,8 à 29,9 kbases comporte 10 cadres de lecture ouverts (*open reading frames*, ORF) et code environ 30 protéines (14). Dans sa partie 5', se trouve une séquence non codante puis l'ORF1ab codant une polyprotéine non-structurale (21 290 nucléotides), scindée en 16 protéines non structurales, dont l'ARN polymérase ARN dépendante, les gènes codant les protéines de structure S (S1 et S2), E, M puis N. L'ORF1a code les protéines 1 à 11 et l'ORF1b celles de 12 à 16 (15, 16). Six gènes codant des protéines accessoires sont présents entre les gènes des protéines de structure (cf. figure 2) (14). Pour des questions de facilité, le génome est en général représenté sous la forme de son équivalent ADN.

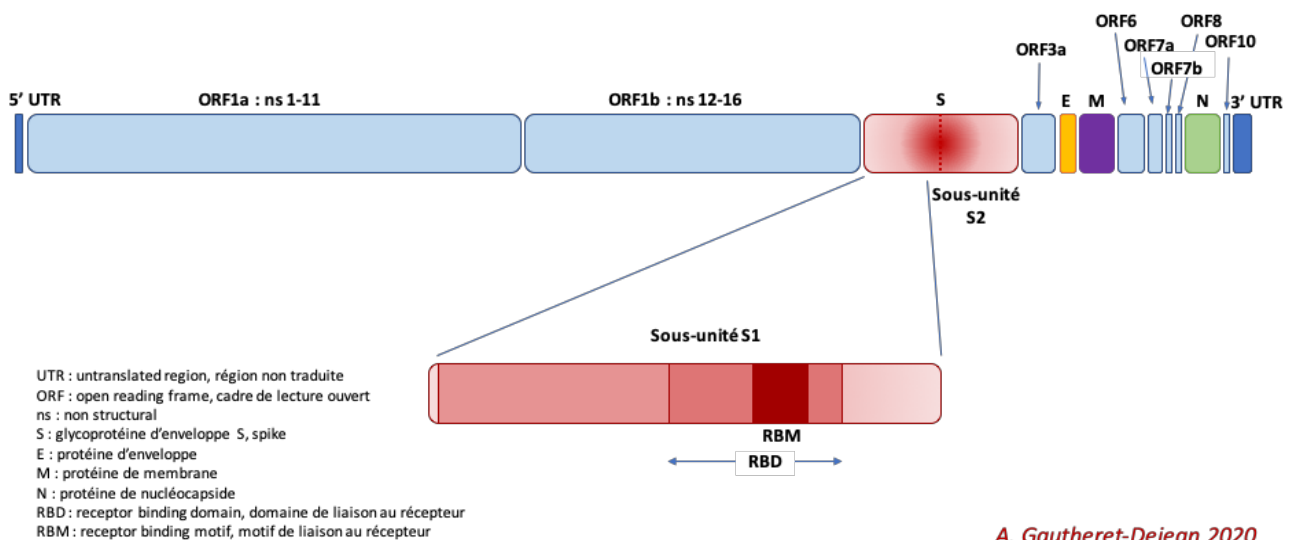
Structure schématisée du SARS-CoV-2



(A. Gautheret-Dejean 2020)

Figure 1 : Structure du SARS-CoV-2

Structure schématisée de l'ARN génomique du SARS-CoV-2 (29903 nucléotides)



A. Gautheret-Dejean 2020

Figure 2 : Structure du génome

Le principal récepteur du SARS-CoV-2 est l'ACE2 (angiotensin converting enzyme 2) qui est très largement exprimé à la surface de différentes cellules de l'organisme humain. Il se trouve en effet à la surface des cellules de l'épithélium du nez, de la trachée, des bronches, des glandes séreuses bronchiques, des alvéoles pulmonaires, des monocytes et macrophages alvéolaires, des cellules endothéliales et des myocytes des vaisseaux sanguins, des entérocytes de l'intestin grêle, des cellules épithéliales des tubules rénaux et des neurones (15).

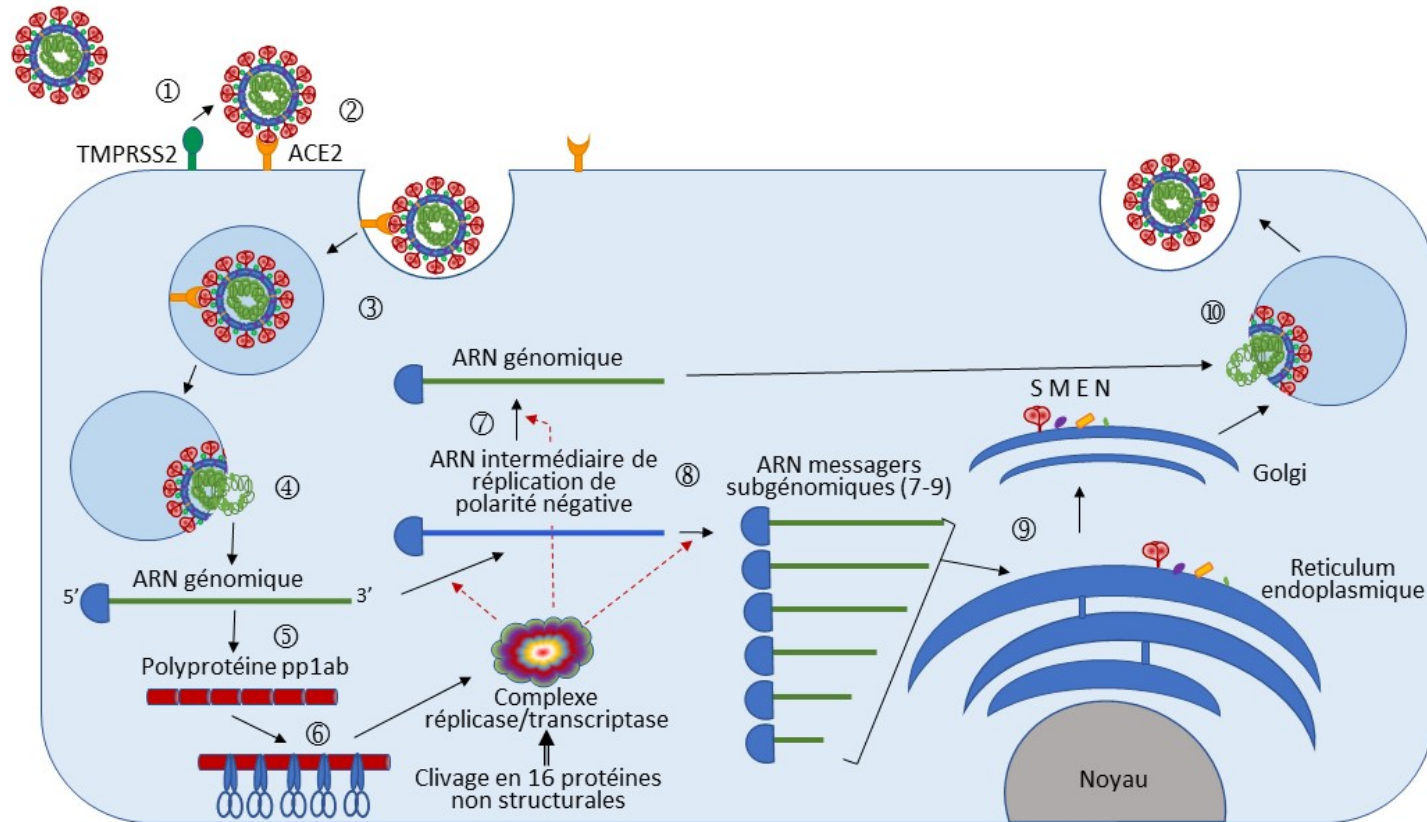
Le cycle de multiplication intracellulaire du SARS-CoV-2 est analogue à celui décrit pour le SARS-CoV-1 (cf. figure 3) (15). Après activation de la protéine S par clivage par la protéase transmembranaire sérine 2 TMPRSS2 cellulaire en sous-unités S1 et S2, S1 se fixe sur le récepteur ACE2 *via* le domaine de liaison au récepteur (RBD, *receptor binding domain*) et, plus particulièrement, le motif de liaison au récepteur (RBM, *receptor binding motif*). S2 permet la fusion entre la membrane plasmique et l'enveloppe virale et la particule virale entre dans la cellule par endocytose. Après fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de la vésicule d'endocytose, la nucléocapside est relarguée dans le cytoplasme et l'ARN viral est libéré par décapsidation. Les ORF1a et ORF1ab sont traduites en polyprotéines 1a et 1ab qui vont être clivées par des protéases issues de l'ORF1a pour former le complexe ARN réplicase-transcriptase, constitué de 16 protéines non structurales (ORF1a : NSP1 à 11, ORF1b : NSP12 à 16). Ce complexe permet la synthèse d'ARN de polarité négative servant de matrice pour la synthèse de nouveaux ARN génomiques de polarité positive et d'ARN subgénomiques messagers. Ainsi, au cours de la transcription, 7 à 9 ARN subgénomiques sont produits, incluant ceux des protéines structurales. Les nucléocapsides sont assemblées à partir des nouveaux génomes et de la protéine N de capsid. Les protéines de l'enveloppe virale viennent se fixer dans les membranes de l'appareil de Golgi. Les nouveaux virions bourgeonnent à partir de la lumière de l'appareil de Golgi et sont ensuite dirigés vers la surface cellulaire où ils sont relargués dans le milieu extracellulaire par exocytose, fusion de la vésicule d'endocytose avec la membrane plasmique.

Conclusion

Le SARS-CoV-2 est un virus enveloppé à capsid hélicoïdale dont le génome est constitué d'ARN simple brin de polarité négative d'environ 30000 nucléotides. La protéine S (spike) de surface se lie au récepteur cellulaire ACE2. Elle contient 2 sous-unités, S1 et S2, S1 incluant le domaine de liaison au récepteur (RBD, *receptor binding domain*) qui contient le motif de liaison au récepteur (RBM, *receptor binding motif*). La sous-unité S2 contient le peptide de fusion.

Lors de sa réplication le virus synthétise de nouveaux ARN génomiques de polarité positive et des ARN subgénomiques messagers ; la présence de ces derniers permet de s'assurer de la multiplication du virus. Ceci est important pour différencier l'existence d'une multiplication virale active de la persistance locale du virus post-challenge dans les modèles animaux (cf. plus loin).

Schéma du cycle de multiplication intracellulaire du SARS-CoV-2



A. Gautheret-Dejean 2020

Figure 3 : Le cycle de multiplication intracellulaire du SARS-CoV-2

Légende

- ① Activation de la protéine S par clivage par la protéase sérine 2 transmembranaire TMPRSS2 cellulaire en sous-unités S1 et S2.
- ② Fixation de S1 sur le récepteur ACE2 via la région RBD (receptor binding domain). S2 facilite la fusion entre la membrane plasmique et l'enveloppe virale.
- ③ Entrée du virion par endocytose.
- ④ Fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de la vésicule d'endocytose. Décapsidation et libération de l'ARN génomique.
- ⑤ Traduction des ORF1a et 1b en polyprotéine pp1ab.
- ⑥ Clivage de la pp1ab en 16 protéines non structurales NSP1 à NSP16 par une protéase virale et formation du complexe réplicase / transcriptase.
- ⑦ Réplication de l'ARN génomique viral de polarité positive grâce à l'ARN polymérase ARN dépendante avec passage par un ARN intermédiaire de réplication de polarité négative.
- ⑧ Synthèse des ARN subgénomiques messagers à partir de l'ARN intermédiaire de réplication.
- ⑨ Traduction des ARN subgénomiques messagers en protéines de structure.
- ⑩ Maturation et assemblage des nouveaux virions à partir des génomes et des protéines néoformées dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. Sortie des nouveaux virions de la cellule par exocytose.

1.3. Origine du SARS-CoV-2

La recherche du réservoir naturel et d'éventuels hôtes intermédiaires a été menée par différentes équipes avec, en particulier, l'identification de l'ancêtre commun le plus récent (MRCA, Most Recent Common Ancestor).

Par comparaison de 103 génomes de SARS-CoV-2 avec ceux de SARS-CoV-1 et de coronavirus animaux (4 de chauve-souris, 7 de pangolin), Tang F *et al.* (17) ont observé que la souche de coronavirus RaGT13 de chauve-souris (BatCoV RaGT13) était la plus proche du SARS-CoV-2 avec une similarité de séquence nucléotidique de 96,2%. La proximité génétique entre le SARS-CoV-2 et les coronavirus de pangolin est moins forte et le rôle d'hôte intermédiaire de ce mammifère reste putatif (18). Ceci est renforcé par l'étude de Chaw *et al.* qui indique que la similarité de séquence du RBD entre SARS-CoV-2 et le coronavirus de pangolin proviendrait d'un ancien transfert de gènes datant d'au moins 40 ans (19).

Tiwari *et al.*, Paraskevis *et al.*, Ceraolo *et al.* et Wen *et al.* ont également mis en évidence une similarité en nucléotides très élevée allant de 96 à 96,92% entre le génome du SARS-CoV-2 et celui du BatCoV RaGT13 (20-23).

Wen *et al.* expliquent l'adaptation à l'Homme par des mutations situées dans les gènes nsp1, nsp3, nsp15, ORF1ab et S (23). Ainsi, dans la protéine S, 193 acides aminés sont capables de lier ACE2 de façon plus forte en présence des mutations (21 mutations dans les souches de SARS-CoV-2 par rapport à BatCoV RaGT13) (23). L'analyse comparative des 11 498 premiers nucléotides en 5' et de la fin de la partie 3' (24341-30696) du génome de SARS-CoV-2 et BatCoV RaGT13 indique que ce coronavirus de chauve-souris n'est pas le variant exact à l'origine du SARS-CoV-2 mais, en revanche, que l'origine chauve-souris est très probable. En effet, les parties 2' de l'ORF1ab et la moitié du gène S indiquent une séparation des deux virus (21). Les chauves-souris concernées sont de la famille des Rhinolophus (24).

Patiño -Galindo *et al.* proposent le scénario suivant en deux étapes : avant 2009 serait survenue l'incorporation du SARS-like RBD (commun avec le SARS-CoV) dans la souche ancestrale par recombinaison chez la chauve-souris. Ensuite, l'évolution se serait faite par accumulation de mutations spécifiquement dans le RBD (25). Paraskevis *et al.* sont également en faveur d'une recombinaison qui ne serait récente (21). Ainsi, le SARS-CoV-2 ou analogue aurait circulé chez l'Homme de façon cryptique plusieurs années avant sa découverte récente (19).

Lorsque l'on compare les génomes du SARS-CoV-2 et du SARS-CoV-1, le pourcentage d'identité de séquences nucléotidique se situe entre 75 et 80 % (18).

Conclusion

La proximité génétique du SARS-CoV-2 avec la souche BatCoV RaGT13 indique une origine chauve-souris très probable. L'existence d'un hôte intermédiaire reste hypothétique. Le SARS-CoV-2 aurait émergé, avant 2009, par recombinaison puis mutations successives à partir d'une souche ancestrale. Le coronavirus humain le plus proche est le SARS-CoV-1 avec lequel il partage l'organisation génomique.

1.4. Variabilité et évolution génétique du SARS-CoV-2

Le premier génome de SARS-CoV-2 a été publié le 24 janvier 2020 par Zhu *et al.* (26). van Dorp *et al.* estiment l'apparition du MRCA chez l'Homme à fin 2019, avec un début de l'épidémie entre le 06/10/2019 et le 11/12/2019 (27). Benvenuto *et al.* proposent un intervalle analogue 25/11/2019 [95% HPD (*highest posterior density*) 28/09/2019-21/12/2019] (24).

Les études portant sur la variabilité génétique du SARS-CoV-2 utilisent les séquences de génome complet déposées, soit dans Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), soit dans la base GISAID (*Global Initiative on Sharing All Influenza Data*, créée en 2008, <https://www.gisaid.org>). Dans le cadre de l'OMS, un groupe de travail sur l'évolution des séquences génomiques du SARS-CoV-2 a été créé et a débuté son activité en juin 2020. Au 14 septembre 2020, la base GISAID contenait 100274 séquences génomiques de SARS-CoV-2. Les articles sortis dès février n'ont pu comparer que peu de génomes et ont proposé une classification qui n'a pas été conservée. Les dates de recueil des génomes n'étant pas toujours indiquées, il est difficile de comparer les résultats. En revanche, les articles les plus récents et les données disponibles dans la base GISAID apportent des données plus fines par la comparaison de milliers de souches réparties dans le monde entier.

Les origines de la variabilité génétique du SARS-CoV-2 sont les phénomènes de mutation, délétion et recombinaison (création de génome mosaïque). Le génome du SARS-CoV-2 étant non segmenté, il n'y a pas de phénomène de réassortiment (échange de segments de génome).

La variabilité du SARS-CoV-2 est inférieure à celle attendue pour un virus à ARN. Que ce soit pour le VIH ou le virus influenza, le taux de mutation est proche de 1/10 000 nucléotides. Cela semble lié à sa capacité de relecture et de correction, lors de la réplication du génome viral, grâce à la protéine Nsp4 qui est une exonucléase qui excise les nucléotides erronés (27).

1.4.1. Phylogénie des souches de SARS-CoV-2

Initialement, les types L et S ont été définis par Tang *et al.* (28), sur la base de la mise en évidence, pour 103 génomes, de deux SNPs (single nucleotide polymorphism), l'un situé dans l'ORF1ab et le second dans l'ORF8.

Rambaut *et al.* ont ensuite proposé une classification avec deux lignées, A et B, A étant ancestrale, subdivisées en chiffres selon les régions considérées (29). Une lignée C a ensuite été ajoutée (29, 30).

Désormais, l'évolution de la classification comporte la scission du clade L en clades V et G, ce dernier lui-même scindé en GR et GH et GV (GISAID (31)). Le clade S est déterminé par l'ORF8, le clade V par l'ORF3a, et le clade G par le gène S (D614G). On dénombre actuellement 4495 souches différentes ce qui illustre la circulation des différents clades dans le monde depuis le début de la pandémie (GISAID au 14/09/2020).

En France, ont circulé jusqu'à présent des souches des clades S, L, G, GR, GH et GV. Les souches du clade GH sont majoritaires.

Conclusion

La classification actuelle comporte 8 clades : V, L, S, G (scindé en GR, GH et GV) et O. Le clade S est déterminé par l'ORF8, le clade V par l'ORF3a, et le clade G par le gène S (D614G).

Dans le monde, les souches des clades G, GR et GH sont majoritaires. En France, ont circulé jusqu'à présent des souches des clades S, L, G, GR, GH et GV. Les souches du clade GH sont majoritaires.

1.4.2. Taux de substitution/nucléotide/génome/an

Pathan *et al.* ont calculé le taux de substitution à partir des séquences de génome entier dans quatre régions observées au 15/05/2020 : Chine, Australie, USA et le reste du monde (incluant la France avec 2 génomes uniquement) (32). Quelle que soit la région, ce sont la thymine et l'adénine qui sont majoritairement mutées. Il y a une augmentation de 0,1% du taux de mutation pour les substitutions T>C et G, C>G et G>T. En revanche, il est diminué de 0,1% pour les substitutions T>A et A>C.

De façon globale, le taux de mutations faux-sens aboutissant à un changement d'acide aminé était de 34,3 % (32).

Le taux de substitution/nucléotide/génome/an a été évalué par plusieurs auteurs. Les résultats sont présentés dans le tableau 1. MacLean *et al.* (33) indiquent que ce taux est analogue à celui observé pour le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV. Pour avoir un point de comparaison, ce taux est plus élevé pour le gène ENV du VIH qui est un gène variable, plus élevé ou proche pour le gène GAG du VIH qui est moins variable, et plus élevé pour les gènes codant l'hémagglutinine et la neuraminidase du virus influenza.

Tableau 2 : Variabilité du SARS-CoV-2

Virus	Référence	Taux de substitution/nucléotide/génome/an
SARS-CoV-2	MacLean <i>et al.</i> , 2020 (33)	8×10^{-4}
	Benvenuto <i>et al.</i> , 2020 (24)	$6,58 \times 10^{-3}$ [95% HPD $5,2 \times 10^{-3}$ - $8,1 \times 10^{-3}$]
	Li <i>et al.</i> , 2020 (34)	$1,7926 \times 10^{-3}$ - $1,8266 \times 10^{-3}$
VIH gène ENV	Hahn <i>et al.</i> , 1986 (35)	$1,58 \times 10^{-2}$ à $3,17 \times 10^{-3}$
	Li <i>et al.</i> , 1988 (36)	$5,9 \times 10^{-3}$
	Leitner et Albert, 1999 (37)	$4,6 \times 10^{-3}$ à $8,8 \times 10^{-3}$
VIH gène GAG	Hahn <i>et al.</i> , 1986 (35)	$1,85 \times 10^{-3}$ à $3,7 \times 10^{-4}$
Virus influenza A	Al-Qahtani <i>et al.</i> , 2017 (38)	$5,14 \times 10^{-3}$ pour l'HA
		$4,18 \times 10^{-3}$ pour la NA

Selon Dilucca *et al.*, l'évolution par mutation est plus rapide pour les gènes N, réplicase et S, que pour les gènes de matrice et d'enveloppe (39).

Conclusion

Le taux de substitution/nucléotide/génome/an est estimé entre 8×10^{-4} et $8,1 \times 10^{-3}$. Ce taux est inférieur à celui observé pour le VIH ou le virus influenza, probablement en lien avec l'existence d'une activité correctrice.

1.4.3. Mutations majeures et impact sur la pathogénicité

La variabilité revêt une importance primordiale car elle définit le phénotype des souches, leur adaptation à l'hôte, leur tropisme, leur pathogénicité, la réponse immunitaire et leur capacité d'échappement au système immunitaire. La variabilité dans la protéine S et, en particulier le RBD, est

importante à analyser. De nombreuses mutations aboutissant à un changement d'acide aminé ont été décrites mais nous nous limiterons à celles présentes dans le gène S codant la protéine spike (Tableau 2, GISAID au 14/11/2020).

Tableau 3 : Principaux changements d'acide aminé décrits dans le gène S (GISAID au 14/11/2020)

Position et nature du changement d'Aa	Proportion des souches mutées circulant en France (environ %)
L5S	8
D80Y	8
A222V	12
S477N	30
D614G	90

Le type L défini initialement par Tang *et al.* avait une répartition géographique particulière, représentant 70% des cas à Wuhan, et était plus contagieux et agressif que le type S minoritaire à Wuhan (28).

La mutation D614G (Aspartate-Glycine) dans le gène S a été observée dès février et est désormais largement distribuée monde (40, 41). En dehors de la Chine, du Japon et autres pays asiatiques et du Kazakhstan, elle est majoritaire dans l'ensemble des pays du monde, y compris en France où elle est présente dans plus de 90% des souches circulantes (GISAID au 14/11/2020). Cette mutation entraînerait une augmentation de la transmissibilité des souches qui en sont porteuses et du taux de létalité (42). La glycine en 614 déstabiliserait la protéine S (42).

Cependant, d'autres études, en particulier celle de Korber *et al.*, indiquent que cette mutation n'aurait aucun impact en termes d'augmentation de la sévérité de la maladie (43).

Benvenuto *et al.* ont suggéré que la mutation D614G (région RBD de la sous-unité S1) de toutes les souches italiennes étudiées du 29/01/2020 au 27/04/2020 entraînerait une augmentation de la capacité de torsion de la protéine, favorisant sa liaison au récepteur (44). Par ailleurs, deux mutations dans le gène N et retrouvées dans 56% des souches étudiées (AGG>AAA 649/651 et GGA>CGA 652/655) entraînaient également une baisse de stabilité et une augmentation de la capacité de torsion.

Une seconde mutation jouerait un rôle dans la stabilité de la protéine S : G1124V (domaine S2 qui assure la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane plasmique) (41).

Depuis septembre 2020, les mutations A222V et S477N émergent en Europe, et en particulier en France, touchant environ 12 % et 30 % des souches, respectivement. La mutation A222V définit le clade GV. Ces deux mutations auraient un impact sur la stabilité de la liaison au récepteur inférieur à celui de la mutation D614G. La mutation Y453F est apparue récemment dans des élevages de vison au Danemark, et touche également des souches humaines (ECDC du 12 novembre 2020 fichier joint). Elle semble avoir un effet modeste sur la liaison au récepteur (GISAID au 14/11/2020).

Il est difficile, à partir des données du GISAID, d'évaluer le pourcentage des autres mutations dans le monde.

Kim *et al.* ont analysé 4 254 génomes de la base GISAID et ont mis en évidence 1 352 mutations non-synonymes réparties dans 12 gènes, en particulier les ORF1a, ORF1b, S, ORF3a et N (31). Pour 3498 souches, 182 mutations non-synonymes étaient présentes dans le gène S, 27 mutations non-synonymes dans la région RBD dans la région adjacente au site de fixation à l'ACE2. Deux mutations V483A et G576S décrites pour le MERS-CoV et le SARS-CoV-1 sont liées à l'affinité pour le récepteur.

La mutation D614G représentait 13% des mutations non synonymes jouxtant le site polybasique de clivage (PBCS, site d'action de protéase entre S1 et S2) (31). La mutation R682Q aurait un effet sur la structure et la fonction des protéines S1 ou S2.

Tiwari et Mishra ont analysé 591 génomes complets de SARS-CoV-2. Ils ont mis en évidence 100 substitutions dont 57 entraînaient un changement d'acide aminé et cela principalement dans la protéine S (Fig. 4 (20)). L'impact pourrait être une augmentation de la virulence, par homologie à ce qui a été observé pour la grippe. En revanche, les régions Nsp7-10, 16, E et ORF6 avaient une similarité en acides aminés de 100% et les gènes les moins variables étaient ORF10 et E et seraient de bons candidats pour le développement d'anticorps et de vaccins (20).

Wang *et al.* ont mis en évidence une mutation en position 1099 du gène S sans indiquer de possible conséquences (45).

Cheng *et al.* ont montré qu'un motif proche de la région de clivage S1/S2 du SARS-CoV-2 (PBCS) se comportait comme superantigène, capable de stimuler de façon polyclonale de nombreux lymphocytes T. Les interactions virus/ TCR étaient stabilisées et augmentées en présence de la mutation D839Y/E présente dans les souches européennes (46).

Conclusion

Dans le gène S, 5 principales mutations ont été observées dans les souches circulant en France (L5S, D80Y, A222V, S477N, et D614G). Observée dès février 2020, la mutation D614G est majoritaire dans la très grande majorité des pays du monde et en France (90% des souches).

Cette mutation entraînerait une augmentation de la transmissibilité des souches qui en sont porteuses et du taux de létalité. Elle entraînerait une augmentation de la capacité de torsion de la protéine, favorisant sa liaison au récepteur.

1.4.4. Impact de la variabilité sur l'échappement au système immunitaire

Une question importante est de savoir si les mutations accumulées par le SARS-CoV-2 peuvent le rendre moins sensible à la réponse immunitaire adaptative. Cette question a été essentiellement étudiée sur le versant humoral de cette réponse et notamment sur l'échappement aux anticorps neutralisants.

Plusieurs équipes ont pu rapidement isoler et produire des anticorps neutralisants monoclonaux anti-SARS-CoV-2 (47, 48). L'utilisation de ces anticorps en monothérapie *in vitro* dans des modèles de pseudo-infections avec des virus chimériques de type VSV/SARS-CoV-2 aboutit rapidement à la sélection de mutants viraux insensibles à la neutralisation, cette insensibilité étant liée à l'apparition de mutations notamment dans les domaines RBD de la protéine spike (47, 48). Cependant, l'utilisation de plusieurs anticorps – ce qui correspond à la situation en post-infection ou post-vaccination où plusieurs anticorps sont produits – permet d'éviter l'apparition de telles mutations (47, 48).

Qu'en est-il des données *in vivo* ? L'évolution virale et l'apparition/maintien de mutations de résistance dépendent de la pression de sélection du système immunitaire. L'étude des infections par les coronavirus banals responsables de rhume permet de mieux comprendre la biologie des coronavirus et leur évolution face au système immunitaire. Le HCoV-229E a développé un mécanisme qui l'aide à survivre et à se développer. Le RBD de ce virus est composé de trois parties qui varient

considérablement d'une souche à l'autre. Grâce à cette variation, les anticorps sont incapables de détecter de nouvelles souches, alors que les RBD conservent - et même améliorent - leur affinité pour la cellule cible. De plus, les RBD alternent entre des états visibles et masqués (49). La plupart des populations à l'échelle mondiale étant encore susceptibles au SARS-CoV-2, il est peu probable que l'immunité soit actuellement un facteur majeur dans l'évolution du virus. Mais à mesure que l'immunité de la population s'accroît, que ce soit par infection ou par vaccination, un phénomène, à bas bruit, de mutations qui échappent au système immunitaire pourrait survenir, aidant le SARS-CoV-2 à s'établir de façon permanente, ce qui pourrait par ailleurs changer sa pathogénicité, induisant des symptômes généralement légers lorsqu'il va infecter des individus qui bénéficient d'une immunité résiduelle à l'égard d'une infection ou d'une vaccination antérieure. A l'heure actuelle peu de données existent concernant l'infection par le SARS-CoV-2. Des souches virales présentant des mutations de leur domaine RBD sont présentes à des niveaux très faibles parmi les populations infectées (50). La mutation D614G pourrait même faire du virus une cible plus facile pour les vaccins. En effet, l'équipe de D Montefiori a montré dans une étude récente que les anticorps post-vaccinaux (vaccins ARN) obtenus chez la souris, le macaque et l'Homme avaient des pouvoirs neutralisants plus importants vis-à-vis des virus G que des virus D (51).

Conclusion

L'étude des infections par les coronavirus banals responsables de rhume permet de mieux comprendre la biologie des coronavirus et leur évolution face au système immunitaire. Ceci a été étudié uniquement sur le versant humoral de la réponse immunitaire. Le HCoV-229E met en place des mutations de son RBD résistant à la neutralisation par les anticorps qui l'aident à survivre et à se développer.

Concernant le SARS-CoV-2 les données sont les suivantes :

1. In vitro : sélection rapide de mutants de résistance à la neutralisation après utilisation d'anticorps monoclonaux neutralisants en monothérapie (effet non retrouvé si utilisation de plusieurs anticorps qui est ce qu'on attend post-vaccination)
2. In vivo : des souches virales présentant des mutations de leur domaine RBD sont présentes à des niveaux très faibles parmi les populations infectées. La souche virale D614G qui est la plus prévalente semble elle plus sensible à la neutralisation.

2. Modèles animaux en vaccinologie et dans le contexte de l'infection par le SARS-CoV-2

2.1. Présentation générale

Les coronavirus classiques se multiplient dans l'oropharynx et sont responsables de rhume, les autres virus se multipliant dans le poumon (MERS-CoV et SARS-CoV-1) ou dans les deux sites (SARS-CoV-2) et sont à l'origine de pathologies plus graves, avec des taux de mortalité pouvant aller jusqu'à 30% pour le MERS-CoV.

S'ils partagent la même physiopathologie expliquant notamment les formes graves (cf. plus loin) le tropisme du SARS-CoV-1 et du MERS-CoV est différent de celui du SARS-CoV-2. En effet, le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV infectent l'arbre respiratoire et non les voies aériennes supérieures, ce qui explique qu'ils soient sans doute moins transmissibles et que les formes asymptomatiques soient également moins fréquentes. Ils ne conduisent dès lors pas à la mise en place de la même réponse muqueuse et, dans ces infections, l'objectif primaire d'un vaccin est plus clairement celui d'une protection individuelle, ce qui n'est peut-être pas le cas de l'infection par le SARS-CoV-2.

Les modèles animaux peuvent s'avérer particulièrement importants dans le contexte d'une infection pandémique en phase de résolution. En effet, la diminution du nombre de cas peut rendre difficile voire impossible la réalisation d'essais de phase 3. La mise au point d'un vaccin chez l'Homme et surtout l'obtention d'une AMM reposeront alors en partie sur des données immunologiques et sur la pertinence des corrélats de protection obtenus dans les modèles animaux. Ce type d'approche, dénommé immuno-bridging, a par exemple été proposé lors de la mise en place d'un vaccin contre le *Bacillus anthracis* (bactérie responsable de la maladie du charbon) (52) et des vaccins contre le virus Ebola.

Idéalement, un modèle animal doit 1) être susceptible à l'infection par un pathogène cible, 2) permettre de reproduire la physiopathologie de l'infection chez l'Homme 3) disposer d'un système immunitaire dont les mécanismes ont été suffisamment étudiés et pour lesquels des systèmes d'études *in vitro* sont facilement disponibles 4) induire des réponses immunitaires qui ressemblent étroitement à celles obtenues chez l'Homme 5) être facile à entretenir.

La pertinence des modèles animaux en termes de recherche vaccinale a été très bien synthétisée par Herati et Wherry dans un article paru en 2018 (53). Il est important de noter que si certaines limites des modèles animaux ne peuvent être ajustées, d'autres sont susceptibles d'être modulées dans les différents modèles (âge, sexe, utilisation animaux transgéniques pour récepteurs humains,...).

Les modèles animaux les plus utilisés en pharmacologie sont la souris et les NHP (Primates Non Humains, macaques et singes verts essentiellement) et le rat en général pour les études toxicologique sur les vaccins. Par ailleurs, les autres avantages de l'utilisation des modèles animaux sont de pouvoir étudier tous les compartiments tissulaires et de déterminer les organes cibles et les conséquences en termes de toxicité, de bénéficier de faible variabilité inter-individuelles entre animaux, d'une puissance statistique satisfaisante, de pouvoir maîtriser de ce qui est administré (quantité, période, durée) et de pouvoir limiter les facteurs confondants (co-médications et co-morbidités notamment).

2.2. Limitations et problématiques des modèles animaux

Un certain nombre de problèmes ou de limitations peuvent venir moduler la pertinence des modèles animaux ou la transposition à l'Homme des résultats obtenus chez l'animal. Considérons ces différentes limitations :

2.2.1. Absence d'infection naturelle dans l'espèce considérée

De nombreux modèles animaux ne correspondent pas à des hôtes naturels de l'infection et dès lors l'infection y est, en général, moins sévère. Les modèles animaux développés pour les infections à SARS-CoV-1 et MERS-CoV comprennent actuellement chats, civettes, camélidés, singes, souris, hamsters, furets, lapins et autres hôtes potentiels (54). Dans le cas du SARS-CoV-2, l'origine chauve-souris est la plus probable. Cependant, on ne sait pas de façon définitive s'il existe un hôte intermédiaire, et plusieurs autres espèces pourraient être infectées ; c'est le cas notamment du chat (55), du furet (55), du chien (56) et du vison (57). Les animaux domestiques (chat et chien) sont rarement utilisés comme modèles expérimentaux pertinents. En revanche, la démonstration de l'infection de ces espèces est intéressante, sur le plan épidémiologique, car elles pourraient représenter des réservoirs viraux à partir desquels le virus pourrait réémerger ou persister, ceci étant particulièrement vrai pour le chat, espèce chez laquelle une transmission aérienne d'un individu à l'autre a pu être démontrée (55). Une telle transmission a également été mise en évidence chez le furet (58) et une transmission de l'animal à l'Homme a été évoquée dans le cas du vison (57), conduisant à la destruction récente d'élevages entiers aux Pays-Bas.

2.2.2. La physiopathologie et la gravité de l'infection peuvent être différentes

Ce point est crucial en effet dans le cas particulier des infections à coronavirus au cours desquelles la réponse immunitaire peut participer à la physiopathologie de l'infection (cf. plus loin, (59)). Un point particulièrement pertinent dans le contexte de l'infection par le SARS-CoV-2 en termes de vaccination est de savoir si les modèles animaux peuvent reproduire les différences de réponse immunitaire observées chez l'Homme en fonction de l'âge. Ceci semble être le cas dans pour les modèles NHP après vaccination antigrippale (60). Une équipe s'est d'ores et déjà intéressée à l'influence de l'âge sur l'infection dans le modèle NHP sans analyser toutefois la réponse immunitaire, et a pu montrer que les singes les plus âgés excrétaient plus de virus que les plus jeunes (61). L'âge avancé des macaques rhésus a également été associé à un nombre accru de changements radiologiques et histopathologiques (62). A noter que la quantité de virus nécessaire pour infecter les NHP est bien supérieure à celle nécessaire pour infecter le hamster.

À l'heure actuelle, aucun modèle de souris ne possède tous les aspects de COVID-19 chez l'Homme, en particulier les caractéristiques inhabituelles telles que la maladie vasculaire pulmonaire et les syndromes hyperinflammatoires observés respectivement chez les adultes et les enfants (63).

2.2.3. Le système immunitaire est différent entre les espèces

La proximité des réponses immunitaires est évidemment un des éléments clés à prendre en compte dans l'évaluation de la pertinence d'un modèle animal vaccinal (64). Pour que ces modèles soient en mesure de fournir ces données, il est important de tenter d'induire une maladie respiratoire aggravée associée au vaccin dans des modèles de provocation COVID-19 en utilisant des doses sous-optimales de vaccins candidats ou de préparations antigéniques dans le but d'induire le profil immunitaire nuisible requis et la pathologie pulmonaire associée (62). La grande majorité de l'efficacité des vaccins repose sur l'induction d'une réponse humorale. Celle-ci médiée par les anticorps fait appel, en fonction des

infections, à une activité neutralisante portée par le fragment Fab et d'autres fonctions (ADCC, lyse par le complément, etc.) portées par le fragment Fc de ces protéines. Les anticorps mais également les récepteurs au fragment Fc des IgG - dont on verra plus loin qu'ils peuvent être un des éléments associés à l'effet délétère des anticorps dans le contexte des infections à coronavirus - sont différents chez l'Homme, la souris et les NHP. Ces différences portent sur leurs capacités de liaison des différentes sous-classes d'IgG et de la signalisation induite après fixation de celles-ci ainsi que sur les profils d'expression de ces protéines par les différentes cellules immunitaires (65). Si les récepteurs de l'Homme et des NHP sont moins éloignés, des différences existent là également, pouvant expliquer les différences d'efficacité observées dans le modèle NHP et chez l'Homme avec certains candidats vaccins notamment anti-VIH (66). Lorsqu'on s'intéresse à la réponse lymphocytaire T, on constate que, bien que différents en termes d'organisation génétique, les CMH humain et macaque rhésus de classe I peuvent sélectionner les mêmes peptides attestant de la pertinence des macaques rhésus pour étudier la réponse T CD8+ post-infectieuse ou post-vaccinale (67). Il convient également de ne pas oublier que les animaux utilisés en laboratoire sont souvent consanguins (inbred mice), ce qui limite évidemment la diversité génétique et, dès lors, la diversité potentielle de la réponse immunitaire.

2.2.4. Plusieurs facteurs influencent la sévérité de l'infection par le SARS-Cov-2 chez l'Homme

Ces facteurs sont détaillés dans le WP3 et permettent notamment d'identifier les groupes à risque. Ils comprennent notamment un âge avancé, la présence d'un surpoids ou d'un diabète, ou le fait d'être du genre masculin. Plusieurs de ces facteurs ne sont pas pris en compte chez l'animal. En termes de physiopathologie, il a pu être montré que les macaques âgés (>10 ans) faisaient des formes plus graves avec une excrétion virale plus prolongée que les animaux plus jeunes (3 ans) que ce soit dans le modèle SARS-CoV-1 (68) ou dans le modèle COVID-19 (69), mais l'influence de ces facteurs sur la réponse immunitaire spécifique n'a pas été étudiée.

La susceptibilité à l'infection peut être fonction de plusieurs autres facteurs, notamment la composition génétique de l'ACE2, l'expression de l'ACE2 spécifique à un organe et d'autres facteurs de l'hôte (tels que des récepteurs supplémentaires et les réponses immunitaires de l'hôte). Par exemple, une étude basée sur la structure tridimensionnelle de la protéine du pic du SRAS-CoV-2 liée à l'ACE2 humaine a examiné la variation observée entre 19 espèces animales différentes, ainsi qu'au sein de 3 colonies de la même espèce de chauve-souris provenant de différentes provinces de Chine. Cette analyse a permis de constater que de nombreuses affinités prévues de la protéine de pointe pour le récepteur ACE2 (en particulier celles du chien et du porc) ne correspondaient pas à la résistance naturelle relative des espèces correspondantes au SRAS-CoV-2. Il a été proposé que cela soit dû à des différences entre les espèces dans les niveaux d'expression ACE2 dans l'épithélium respiratoire (70).

2.2.5. Influence du microbiote digestif

Un des facteurs limitant des modèles animaux pourrait être également l'existence d'un microbiote très différent de celui de l'Homme, plusieurs études ayant montré que le microbiote joue un rôle dans la réponse humorale (71) et, dès lors, dans la réponse vaccinale (72).

2.3. Les modèles animaux dans le SARS-CoV-2

Comme les humains n'ont pas d'immunité préexistante contre le SRAS-CoV-2, il est urgent de mettre au point des agents thérapeutiques et des vaccins pour atténuer la pandémie actuelle et prévenir la réapparition du COVID-19. En février 2020, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a réuni un

groupe international chargé de mettre au point des modèles animaux pour le COVID-19 afin d'accélérer les essais de vaccins et d'agents thérapeutiques. Dans le but de tester ces mesures et d'autres contre-mesures médicales potentielles, il est impératif d'identifier des modèles animaux pour COVID-19 qui fournissent des données mesurables pour des interventions potentielles et qui utilisent des isolats de virus représentatifs (73).

Habituellement, ce sont les rongeurs et petits animaux qui sont préférés dans les expérimentations animales. La souris ne représente pas un modèle idéal d'infection par les virus de type SARS-CoV, les récepteurs permettant l'infection virale étant trop différents de ceux de l'Homme (54). La mise au point de souris exprimant l'ACE2 humain a permis de développer un modèle pertinent pour l'étude de l'infection par le SARS-CoV-1 (74). Ce modèle semble toutefois moins pertinent en ce qui concerne l'infection par le SARS-CoV-2, les souris ne développant qu'une forme mineure de la maladie (75, 76).

Les souris humanisées (Hu-Mice) sont des souris présentant un déficit immunitaire sévère chez lesquelles on a greffé un système immunitaire humain. Il existe différents modèles de souris humanisées et celles-ci sont parfois utilisées en vaccinologie (77). Cependant, outre que ces souris sont très fragiles, l'absence d'expression de récepteur du SARS-CoV-2 vient compliquer le modèle. Des auteurs ont proposé d'utiliser des souris humanisées au niveau du système immunitaire mais également pulmonaire. Si ce modèle est éventuellement pertinent, il reste également complexe et n'est pas utilisé à l'heure actuelle (78). Les souris modifiées génétiquement ou avec des adénovirus ou CRISPR, ou les souris WT infectées par des virus adaptés seront sans doute les plus utilisées en raison de leur facilité et de leur coût, mais aussi parce qu'elles reproduisent les caractéristiques humaines de l'inflammation pulmonaire, de l'histopathologie et de la pneumonie.

Une série de modèles animaux ont été utilisés pour étudier le COVID-19 avec une sensibilité variable qui dépend probablement de la composition spécifique des espèces pour l'ACE2.

Le hamster représente à l'inverse un bon modèle d'infection par le SARS-CoV-2, ce rongeur développant une atteinte pulmonaire similaire à ce qui est observé chez l'Homme et mettant en place une réponse anticorps spécifique protectrice (79, 80). Cependant, si le hamster représente un bon modèle d'étude de l'infection et donc d'étude de l'impact des traitements, sa distance phylogénétique avec l'Homme implique qu'il n'est sans doute pas le modèle le plus adapté pour étudier les mécanismes immunopathologiques liés à la réponse spécifique (cf. plus loin). L'infection chez le furet semble également mimer ce qui est observé chez l'Homme, notamment en termes de tissus cibles, d'excrétion au niveau des sphères ORL, urinaire et digestive, et de transmissibilité (81). Toutefois, les symptômes restent peu importants chez cet animal et la réplication au niveau des poumons est inférieure à celle observée après une infection par le SARS-CoV-1 (58).

Les macaques (*rhesus* et *cynomolgus*) représentent également, semble-t-il, de bons modèles d'étude de l'infection à SARS-CoV-2 (61, 82-84). Si les symptômes restent aussi peu importants dans cette espèce, des lésions histopathologiques pulmonaires identiques à celles retrouvées dans l'infection humaine ont pu être mises en évidence (82). Les récentes études publiées permettent par ailleurs de montrer, au moins à court terme, que l'infection induite par le SARS-CoV-2 semble protectrice (82, 83). Dans ces études, les animaux ont tous présenté après infection par le SARS-CoV-2 une pathologie avec, cependant, des signes cliniques modérés. La charge virale était élevée dans le tractus respiratoire et une réponse adaptative B et T a été mise en évidence. A noter que chez certains animaux supplémentaires une étude anatomopathologique a mis en évidence des images de pneumopathie interstitielle inflammatoire. De manière intéressante, les animaux initiaux ont été réinfectés à J35 (82) ou J28 (83). Cette réinfection s'est accompagnée chez tous les animaux d'une augmentation très rapide de la réponse anamnesticque et d'un contrôle très rapide de la multiplication virale avec très peu de signes cliniques, permettant de conclure à l'effet protecteur de la réponse

induite après infection. Il a toutefois été constaté la présence d'une multiplication virale au niveau de l'oropharynx après réinfection, même si celle-ci était inférieure à celle observée en primo-infection. Ce dernier point est important et pourrait permettre d'envisager que l'immunité naturelle ne soit pas complètement stérilisante, mais protégerait davantage contre une forme plus sévère lors d'une réinfection.

Enfin, il est important de garder en tête que si l'infection est indépendante de la quantité de virus utilisée pour infecter les animaux, cette dernière influe sur la sévérité de la maladie (79). Ce paramètre est important pour l'évaluation des études chez l'animal et leur pertinence pour une transposition chez l'Homme, les doses infectantes étant possiblement supérieures à ce qui se passe lors d'une infection naturelle.

Une synthèse des résultats avec les différents candidats vaccins anti-SARS-CoV-2 (cf. plus loin) a été récemment publiée dans *Nature* (85), cette synthèse est reproduite dans le tableau 3 ci-dessous.

Conclusion

Idéalement, un modèle animal doit :

1. Être susceptible à l'infection par un pathogène cible ;
2. Permettre de reproduire la physiopathologie de l'infection chez l'Homme ;
3. Disposer d'un système immunitaire dont les mécanismes ont été suffisamment étudiés et pour lesquels des systèmes d'études *in vitro* sont facilement disponibles 4) Induire des réponses immunitaires qui ressemblent étroitement à celles obtenues chez l'Homme 5) être facile à entretenir.

La souris, animal le plus utilisé en expérimentation animale, n'est pas susceptible à l'infection par le SARS-CoV-2.

Les modèles animaux les plus pertinents pour l'exploration de la réponse immunitaire post-vaccinale au cours de l'infection SARS-CoV-2 semblent être :

1. Le modèle souris pour exploration rapide de la réponse immunitaire et notamment sur son versement humoral ;
2. Le modèle NHP dans un deuxième temps pour s'assurer de l'efficacité clinique et de l'absence d'effet délétère de la réponse immunitaire.

Le hamster et la souris transgénique ACE2 humaines sont des modèles pertinents d'étude de l'infection par le SARS-CoV-2, mais les rongeurs sont plus éloignés phylogénétiquement de l'Homme et ne représentent donc sans doute pas les bons modèles pour étudier des mécanismes d'immunopathologie.

Il existe dans les modèles animaux une corrélation entre la dose utilisée pour infecter l'animal et la sévérité de la maladie. Ceci est important lorsque l'on veut transposer ces résultats chez l'Homme chez qui les doses infectantes sont souvent probablement moins importantes que celles utilisées dans les modèles animaux, et lorsque l'on souhaite comparer les différentes études chez l'animal.

Par ailleurs, il est sans doute intéressant/important d'avoir des animaux d'âges différents, l'âge étant un facteur déterminant de la sévérité de l'infection à SARS-CoV-2 chez l'Homme.

Tableau 4 : Résultats obtenus avec les différents candidats vaccins anti SARS-CoV-2 les plus avancés (adapté de Krammer, 2020 (85))

Animal	Dose infectante et voie(s)	Type de vaccins	Dose Nombre injections et voie	Taux AcN Post prime*	Taux AcN Post boost	Taux AcN Après 2nd boost	Réponse T	Protection VARS	Protection poumon	Référence
Rhesus	10 ⁶ TCID50 (IT)	Inactivé	3 – 6 µg (IM)	aucun	1/10	1/50	NR	Partielle	Partielle : faible dose Complète : dose élevée	Gao <i>et al.</i> , 2020 (86)
Cynomolgus	10 ⁶ TCID50 (IT)	Inactivé	4 – 8 µg (IM)	1/100	1/200	NP	NR	Partielle	Complète	Wang <i>et al.</i> , 2020 (87)
Rhesus	2,6 x10 ⁶ TCID50 (IT, oral, IN, oculaire)	Vecteur viral (ChAdOx1)	2,4 x10 ¹⁰ 1 ou 2 injections (IM)	1/5-40	1/10-160	NP	oui	Non	Partielle : une dose Complète : deux doses	van Doremalen <i>et al.</i> , 2020 (88)
Rhesus	10 ⁵ TCID50 (IT)	Vecteur viral (Ad26)	1 x10 ¹¹ (IM)	1/100	NP	NP	Faible	complète	Complète	Mercado <i>et al.</i> , 2020 (89)
Rhesus	7,5 x 10 ⁵ TCID50 (IT, IN)	ARN	10 – 100µg 2 injections (IM)	NR	1/500-3841	NP	Oui CD4+, TFh	complète	Partielle : faible dose Complète : dose élevée	Corbett <i>et al.</i> , 2020 (90)

Animal	Dose infectante et voie(s)	Type de vaccins	Dose Nombre injections et voie	Taux AcN Post prime*	Taux AcN Post boost	Taux AcN Après 2nd boost	Réponse T	Protection VARS	Protection poumon	Référence
Cynomolgus	10 ⁴ TCID50 (IT, IN)	Protéine + adjuvant	2,5 – 25µg 2 injections	NR	17,920-23,040	NP	NR	Partielle (dose faible) Complete (dose élevée)	Complète	Guebre-Xabier <i>et al.</i> , 2020 (91)
Rhesus	1,5 10 ⁶ (IT, IN)	ARN (BNT162b2 Pfizer-BioNtech)	30 µg 2 injections (IM)		30,339 (UI/ml)	1689	Oui réponse Th1	Complete (à J3)	Complète (mais dose utilisée de vaccin 100 µg)	Vogel <i>et al.</i> , 2020 (92)

Ac N : anticorps neutralisants, IT : intra trachéale, IN : intra nasale, IM intra musculaire, VARS : voies aériennes supérieures, * la manière d'analyser les AcN diffère selon les études)

3. Les réponses immunitaires anti-coronavirus

Les coronavirus qui infectent l'Homme sont des virus à tropisme respiratoire principal. Les études physiopathologiques des infections virales respiratoires révèlent que les virus respiratoires, malgré des structures et des récepteurs différents, sont à l'origine de tableaux clinique et biologique assez identiques (93).

Quand on évoque la réponse immunitaire contre ces virus deux points importants sont à retenir :

- 1) l'importance de la réponse immunitaire muqueuse (94), souvent négligée du fait du problème d'accessibilité aux prélèvements ;
- 2) le rôle possiblement délétère de la réponse immunitaire qui joue un rôle prépondérant dans le tableau clinique par rapport à la réplication virale *per se* (93).

3.1. Réponse immunité innée

La réponse physiologique à une infection virale est générée initialement au niveau cellulaire, le virus étant à même de déclencher plusieurs signaux *via* l'activation des PRR cellulaires (*Pattern Recognition Receptor*). La présence d'ARN viral au sein de la cellule représente notamment un signal fort de danger qui va déclencher les voies interférons et ses molécules cibles (IRF *Interferon Regulator factors*) ainsi que la voie NFkB. Ainsi, les premières lignes de défense sont l'induction des interférons de type I et III (IFN) et la production de facteurs chimiotactiques à l'origine du recrutement localement de cellules inflammatoires, conduisant ensuite à la production de cytokines pro-inflammatoires.

La réponse innée à l'infection par le SARS-CoV-2 présente des caractéristiques particulières. En effet, des données récentes semblent indiquer que la réponse IFN est déficiente après infection par le SARS-CoV-2 (64), alors même que la production de chimiokines (CCL2, CCL8) et de cytokines pro-inflammatoires (IL6, IL1RA) reste normale voire exagérée (cf. plus loin). Des phénomènes analogues avec notamment un défaut de sensing cellulaire et donc de réponse IFN ont également été observés dans les infections par le SARS-CoV-1 et le MERS-CoV (95). De manière intéressante, il a pu également être montré que le récepteur cellulaire du SARS-CoV-2, l'ACE2, étant lui-même une protéine de la famille des ISG (Interferon Stimulated Gene) et donc inductible par l'IFN, permettait au virus de détourner la réponse cellulaire et favoriser sa propre multiplication (96). Des études semblent au contraire indiquer que le SARS-CoV-2 pourrait réguler de façon négative l'expression de l'ACE2 à la surface de la cellule infectée (97, 98).

Les formes les plus sévères de COVID-19 et notamment les formes pulmonaires semblent associées à une « tempête cytokinique » telle qu'on en observe dans les réactions systémiques après utilisation de CAR-T cells ou dans le syndrome hémophagocytaire³ (99).

Ainsi, chez les patients atteints de COVID-19, des différences significatives dans les niveaux plasmatiques d'IL-6 et de CRP qui lui est directement liée - mais également d'autres cytokines comme l'IL-1 (et l'IL-1RA) ont été observées à différents stades de la maladie avec une expression plus élevée dans les cas graves que dans les cas bénins (99). L'augmentation du taux sanguin de polynucléaires neutrophiles, en lien avec l'inflammation, est également un facteur de mauvais pronostic chez les

³ Le syndrome hémophagocytaire est la conséquence d'une activation incontrôlée du système immunitaire, responsable d'une tempête cytokinique. La présentation clinique est celle d'une cytopénie fébrile avec hépato-splénomégalie et atteinte multiviscérale pouvant rapidement engager le pronostic vital.

patients atteints de COVID-19 hémophagocytaire (99). De plus, dans les échantillons de biopsie à l'autopsie d'un patient COVID-19 sévère, l'examen histologique a montré des dommages alvéolaires diffus avec des exsudats fibromyxoïdes cellulaires et des infiltrats inflammatoires mononucléaires interstitiels suggérant une lésion immunitaire sévère (100). L'ensemble de ces données laisse entrevoir la COVID-19 comme une maladie avec une composante immunopathologique importante posant un rationnel à l'utilisation de traitement immunomodulateur dans les formes modérées à sévère. L'existence d'une composante immunopathologique semble d'ailleurs être une des caractéristiques des infections à coronavirus responsables de formes graves que ce soit chez l'Homme ou chez l'animal (95).

Conclusion

L'existence d'une composante immunopathologique semble être une des caractéristiques importantes des infections à coronavirus et notamment du COVID-19, responsable de formes graves que ce soit chez l'Homme ou chez l'animal et posant un rationnel à l'utilisation de traitements immunomodulateurs soit à visée antivirale (interférons de type 1) soit à visée anti-inflammatoire (corticoïdes) dans les formes modérées à sévères.

3.2. Réponses immunitaires adaptatives contre les coronavirus animaux

Les coronavirus ont d'abord été décrits chez les animaux avant de l'être chez l'Homme et de très nombreux coronavirus animaux ont dès lors été décrits. Certains constituent des problèmes sanitaires importants en médecine vétérinaire et ont donc été plus largement étudiés et des vaccins mis au point. Les réponses immunitaires induites par l'infection naturelle par ces virus et après vaccination seront développées ici. Il existe 4 vaccins disponibles contre des coronavirus animaux (cf. tableau 4). Ce sont tous des vaccins vivants atténués (VVA).

Tableau 5 : Caractéristiques des coronavirus animaux contre lesquels a été développé un vaccin

Virus	Genre	Hôte	Tropisme
IBV	<i>Gammacoronavirus</i>	Poulet	Pulmonaire, rénal, appareil reproducteur
TGEV	<i>Alphacoronavirus</i>	Porc	Digestif
BCoV	<i>Betacoronavirus</i>	Veau	Pulmonaire, digestif
FCoV/FIPV	<i>Alphacoronavirus</i>	Chat	Digestif (FCoV) Systémique (FIPV)

Légende : IBV : Virus de la bronchite infectieuse ; TGEV : virus de la gastro-entérite transmissible porcine ; BCoV ; Coronavirus bovin ; FCoV ; coronavirus félin ; FIPV : virus de la péritonite infectieuse féline

3.2.1. Le virus de la bronchite infectieuse aviaire (IBV)

Plusieurs vaccins de type VVA ont été développés contre ce virus. Les points à signaler sont la courte durée de protection induite ne dépassant pas généralement quelques semaines et le défaut de protection croisée entre les différentes souches d'IBV.

La protection semble reposer essentiellement sur la présence d'anticorps contre la partie S1 de la protéine spike (101). Une réponse T CD8+ contre les protéines S1 et N est également associée à une protection après infection, mais le rôle de cette réponse dans le contexte de la protection post-vaccinale n'est pas connue (102).

3.2.2. Le virus de la gastro-entérite transmissible porcine (TGEV)

Ce virus est responsable de gastro-entérite souvent fatale chez les jeunes porcs. Les vaccins développés contre ce virus ne sont pas protecteurs. Leurs cibles immunologiques étaient l'induction d'IgA dans le lait des truies afin de protéger les jeunes porcs.

De manière intéressante, l'incidence de cette infection a grandement diminué avec l'apparition du coronavirus respiratoire porcin (PCRV). Ce dernier n'est autre qu'un variant du TGEV comportant une délétion de 200 acides aminés dans la partie N-terminale de la protéine spike.

Etant beaucoup moins virulent, il représente un vaccin naturel contre le TGEV (103). Il est à noter que le maintien d'une production d'IgA muqueuse après infection tend à diminuer avec le temps, nécessitant des réimmunisations avec le virus sans que le timing optimal de ces réimmunisations ne soit connu (104).

3.2.3. Le coronavirus respiratoire bovin (TGEV)

Ce virus a un tropisme respiratoire et digestif. Il existe un VVA administré par voie nasale mais qui ne protège que contre les formes digestives de l'infection. De manière intéressante il faut noter que des réinfections sont possibles chez les animaux même en présence de taux élevés d'anticorps spécifiques. Il convient toutefois de noter que dans l'article référencé l'étude de ces anticorps a été effectuée par ELISA et que l'aspect qualitatif de ceux-ci n'est donc pas précisé (105).

3.2.4. Le virus de la péritonite infectieuse du chat (FIPV)

Comme dans le cadre des infections PCRV/TEGV, les infections FIPV/FCoV sont la résultante d'infections par le même virus. Une mutation de la protéine S transformant une infection relativement bénigne (FCoV) en une infection létale.

Cette mutation change le tropisme du virus et conduit celui-ci à infecter les macrophages *via* un mécanisme d'ADE (antibody dependant enhancement) médié par les anticorps qui sera développé un peu plus loin (106).

3.2.5. Le virus de l'hépatite murine (MHV)

Le virus de l'hépatite murine fait partie du groupe 2 des coronavirus. Vingt-cinq souches différentes ont été identifiées. MHV-3 est responsable de l'hépatite la plus importante et est donc utilisé pour étudier les mécanismes immunitaires d'une hépatite virale chez la souris. MHV-4, également appelé MHV-JHM, a quant à lui un tropisme neurologique. Cette souche, responsable d'une encéphalite démyélinisante progressive, est utilisée comme modèle murin de la sclérose en plaques.

Dans les infections par ces coronavirus, le rôle de la réponse lymphocytaire T est d'une importance particulière et peut apporter des éléments de réflexion concernant d'autres infections à coronavirus comme le COVID-19. En effet, si les lymphocytes T CD8+ dirigés contre le MHV-JHM sont nécessaires pour éliminer le virus des souris infectées, ils sont également responsables de la démyélinisation (95).

Il faut noter par ailleurs que les lymphocytes sont essentiels pour prévenir la tempête cytokinique qui survient après infection par le MHV-A59 (107).

Conclusion

L'étude de la réponse immunitaire après infections par les coronavirus animaux mettent en évidence :

1. La nécessité d'une réponse anticorps et lymphocytaire T pour assurer la protection,
2. La nature rapidement décroissante de la réponse immunitaire notamment humorale,
3. Le rôle parfois délétère de cette réponse immunitaire avec comme modèle l'infection par le virus de la péritonite infectieuse du chat avec un phénomène d'ADE (antibody dependant enhancement) aboutissant à une propagation de l'infection via l'infection des macrophages

3.3. Réponses adaptatives contre les souches de coronavirus humains peu pathogènes (HKU1, NL63, OC43 et 229E)

Les quatre souches de coronavirus HKU1, NL63, OC43 et 229E sont à l'origine de 15% des rhumes, et on estime que 90% des adultes ont des anticorps sériques contre ces virus (108).

Paradoxalement, assez peu de données sur la réponse anticorps contre ces coronavirus peu pathogènes sont disponibles. Les données les plus anciennes montraient la mise en place d'une immunité de courte durée, en tout cas lorsqu'elle était appréciée par la mesure du taux d'anticorps, s'échelonnant entre 5 mois (109) et 1 an (110). Une étude de séroprévalence des anticorps - reposant sur l'utilisation d'un test de type immunoassay utilisant des protéines de nucléocapside - dirigés contre les 4 différentes souches peu pathogènes, effectuée en 2008 chez 10 enfants et 196 adultes américains, a mis en évidence des séroprévalences élevées (HCoV-229E, 91,3 % ; HCoV-HKU1, 59,2 % ; HCoV-NL63, 91,8 % et HCoV-OC43, 90,8 %) (111). Il est intéressant de constater que cette étude reposait sur l'utilisation d'un test de type immunoassay utilisant des protéines de nucléocapside. Des anticorps anti-coronavirus félin étaient également recherchés et la séroprévalence était de 0%. Le virus félin étant plus étroitement lié aux HCoV-NL63 et HCoV-229E qu'aux HCoV-OC43 et HCoV-HKU1, la corrélation observée entre les coronavirus du groupe I et du groupe II est susceptible de refléter une exposition partagée plutôt qu'une réactivité croisée, et permet de conclure à une grande spécificité de ce type de test. Des enquêtes plus récentes concernant les infections par HCoV-229E et HCoV-OC43 ont mis en évidence par ailleurs des épisodes de réinfection malgré la présence d'anticorps spécifiques se situant entre 30 % et 80 % (112-114). La notion de réinfections fréquentes avec ces coronavirus respiratoires acquis dans la communauté a été confirmée par une étude récente, effectuée sur une période de 18 mois, qui mettait en évidence au moins une réinfection chez 12 sujets sur 196 avec le même virus, avec une moyenne de 37 semaines entre deux tests PCR positifs (115). Ceci est en accord avec les cycles d'infections par ces virus survenant tous les 2 à 3 ans chez l'adulte (116).

Des études plus fines de la cinétique de la réponse anticorps ont pu être effectuées grâce à une étude de challenge viral menée en 1990 sur 16 volontaires qui a permis de mieux comprendre la cinétique d'apparition et de disparition des anticorps et leur caractère protecteur (117). Cette étude menée avec la souche HCoV-229E a montré que les anticorps de type IgG avaient un pic à 12 semaines puis diminuaient rapidement pour retrouver le taux initial, avant infection, à 52 semaines. Ces anticorps étaient de type neutralisant. Les sujets qui ne se sont pas infectés après challenge viral avaient des taux d'anticorps significativement plus élevés que les sujets infectés, et leur taux d'anticorps n'avait pas varié au cours de l'étude avec toutefois une diminution observée à la 52^{ème} semaine, date à laquelle on observait des taux inférieurs à ceux des sujets infectés après challenge. Des épreuves de réinfection à 52 semaines ont montré que la majorité des sujets se réinfectaient (6/9 des sujets infectés lors du premier challenge et 5/5 parmi ceux qui ne l'avaient pas été la première fois) même si la durée de portage viral semblait plus courte que lors de la première infection (2 jours *versus* 5,6 jours) et les signes cliniques moins importants. Parallèlement, une étude de la cinétique des anticorps a été effectuée chez 11 sujets ayant fait une infection naturelle, montrant une évolution identique à celle obtenue après infection par challenge chez les volontaires sains. Il est important toutefois de noter qu'il s'agit d'une étude de challenge et que donc les doses utilisées sont supérieures à celles nécessaires pour une infection naturelle. Plusieurs études de challenge viral ont été effectuées avec des coronavirus banals et permettent de conclure aux mêmes données, mettant en avant le rôle important des IgA sécrétoires sur l'excrétion virale nasale (cf. chapitre immunité muqueuse (117)).

Une question importante est de savoir si la fréquence des réinfections (cf ci-dessus) est liée à une perte de la protection ou à l'évolution des différentes souches de virus. Si le taux de mutation des

coronavirus banals ne semble pas plus important que pour le SARS-CoV-2 – il est de 3×10^{-4} par site par an pour la protéine spike du HCoV-NL63- ces virus circulent depuis bien plus longtemps chez l'Homme et ont donc eu le temps de muter bien plus souvent (118). Ainsi, les expériences de challenge viral avec des souches proches mais différentes du même virus - HCoV-229 E – montrent une protection partielle quand les sujets sont réinfectés après un an avec une souche hétérologue (110, 119).

Il n'existe pas à notre connaissance de données sur la réponse lymphocytaire T contre ces virus.

Conclusion

Au total, les résultats des études de la réponse immunitaire après infection par des coronavirus peu pathogènes HKU1, OC43, NL63 et 229E sont les suivantes :

1. Existence d'une réponse anticorps associée à la protection de courte durée possiblement entre 2 et 3 ans ;
2. Absence d'étude de la réponse lymphocytaire T contre ces virus ;
3. Existence de réinfections fréquentes pouvant être liées à la sélection de variants viraux.

3.4. Réponses adaptatives contre les SARS-CoV-1 et MERS-CoV

Comme pour beaucoup d'autres virus les réponses adaptatives spécifiques protectrices et associées au contrôle de la réplication virale associent des réponses anticorps neutralisantes contre les protéines d'enveloppe (120) et des réponses cellulaires T contre les protéines de structure, en particulier celles d'enveloppe (121).

3.5. Réponses anticorps (Ac)

3.5.1. Réponses Ac contre le SARS-CoV-1

L'étude de la réponse contre le SARS-CoV-1, virus humain le plus proche du SARS-CoV-2, a reposé sur l'utilisation de tests ELISA commerciaux ou fabriqués directement par les équipes (122), permettant d'obtenir des protéines d'enveloppe dans des systèmes eucaryotes, ayant dès lors une composition plus proche de celle existant sur les virus humains, même si la glycosylation ne semble pas impacter la réponse anticorps contre les coronavirus comme elle peut le faire dans d'autres infections virales (123), et de tests de neutralisation (124). Les différents tests utilisés ont permis de rechercher des anticorps contre les protéines spike (S) et de nucléocapside (N).

L'analyse des réponses sérologiques au cours de l'infection par le SARS-CoV-1 indique que les IgG spécifiques pouvaient être détectées dès J4, atteignant un pic 15 à 20 jours après le début de l'infection (125-127). L'analyse de la persistance de la réponse anticorps montre que le pourcentage de sujets encore séropositifs était de 89% à 2 ans, 50 à 74% à 4 ans et 8,7% 6 ans (17, 125, 128). Il existe cependant de large variation individuelle, dont l'origine est mal connue, puisque la persistance de faibles taux d'Ac a pu être mise en évidence jusqu'à 13 ans post-infection chez des personnels soignants (129). Par ailleurs, les études de la réponse Ac ont montré qu'il n'existait pas à 6 ans, chez la plupart des individus ayant été infectés, de réponse B mémoire anti-SARS-CoV-1 (17) et que les taux IgG spécifiques détectés par méthodes standard (ELISA) et les anticorps neutralisants étaient

fortement corrélés (126). Ces résultats ont été toutefois remis en cause par une étude récente où des anticorps neutralisants anti-SARS-CoV-1 pouvaient être détectés jusqu'à 12 ans post-infection, même si les taux en ELISA étaient faibles. Toutefois, l'épidémie de SARS-CoV-1 ayant été rapidement résolutive, il n'est pas possible de savoir si ces anticorps sont associés à une protection clinique (129).

Par ailleurs, l'étude menée par Zhang L *et al.* a permis d'analyser la corrélation entre la sévérité des symptômes et l'évolution du taux des anticorps neutralisants (122). Dans cette étude, il a été constaté qu'il existait des différences considérables dans la dynamique des réponses anticorps entre les deux groupes de patients en fonction de leur évolution clinique. Ainsi, on note une apparition plus précoce, un taux plus élevé mais également une diminution plus rapide du taux des anticorps chez les patients ayant une forme grave ayant conduit au décès. La différence de cinétique des anticorps spécifiques anti-SARS-CoV-1 en fonction du tableau clinique n'est pas parfaitement élucidée et les auteurs proposent que l'activation immunitaire intense et rapide présente chez les personnes décédées puisse être à l'origine de ce phénomène.

Il existe une assez large littérature sur l'analyse des régions les plus immunogéniques de la protéine S du SARS-CoV-1 en termes d'induction d'anticorps neutralisants, ceci dans l'optique de développer un vaccin voire de produire des anticorps très spécifiques à visée d'immunothérapie passive comme cela est envisagé dans d'autres pathologies comme le VIH (120). La réponse anticorps neutralisante est principalement dirigée contre la protéine S et ses sous-unités S1 (en particulier le domaine RBD) et S2 (130, 131). Ces anticorps vont interférer dans la liaison entre le virus et notamment la partie RBD de la protéine S et son récepteur cellulaire l'ACE2. Le tableau 5 ci-dessus répertorie les différents Ac neutralisants isolés chez l'Homme – ou chez la souris - et leur activité *in vitro* et *in vivo*.

Tableau 6 : Principaux anticorps neutralisants contre le SARS-CoV-1 (d'après Jiang S *et al.* , Trends in Immunology, 2020)

Nom Ac	Espèce	Activité neutralisante <i>in vitro</i> sur le SARS-CoV	Mécanismes - cibles	Effet <i>in vivo</i>	Référence
S230.15 m396 mAbs	Homme	Neutralisent souches GD03, Urbani, Tor2	Reconnaît les épitopes (résidus 408, 442, 443, 460, 475) de la protéine S1 du SARS-CoV-1, interférant avec l'interaction RBD-ACE2	Protège la souris contre l'infection par les souches Urbani, rGD03 et rSZ16 du SARS-CoV-1	Zhu <i>et al.</i> , 2007 (132)
S109.8 S227.14 S230.15 mAbs	Homme	Neutralisent souches Urbani, GZ02, CUHK-W1	Inhibe la fixation de RBD sur l'ACE2	Protège la souris contre l'infection par les souches Urbani, GZ02 et HC/SZ/61/03 du SARS-CoV-1	Rockx <i>et al.</i> , 2008 (133)
80R scf.v, mAb	Homme	Neutralisent souche Urbani	Reconnaît les épitopes sur SARS-CoV-1 S1 (résidus 261-672), bloquant la liaison RBD-ACE2	NA	Sui <i>et al.</i> , 2004 (134)
CR3022 CR3014 scf.v, mAb	Homme	Neutralisent souche HKU-39849	Reconnaît les épitopes sur SARS-CoV-1 RBD (résidus 318-510) ; CR3022 se lie sur le RBD du SRAS-CoV-2 RBD avec une affinité élevée	CR3014 protège contre l'infection du furet par la souche HKU-39849 du SARS-CoV-1	Tian <i>et al.</i> , 2020 (135)
33G4 35B5 30F9 mAbs	Souris	Neutralisent souches GD03 et Tor2	Reconnaît les épitopes sur SARS-CoV-1 bloquant la liaison RBD-ACE2	NA	He <i>et al.</i> , 2006 (136)

Si aucun de ces anticorps n'a été utilisé dans des essais cliniques chez l'Homme, les études menées chez l'animal semblent indiquer qu'ils ont un effet protecteur. Cependant, cela ne semble pas le cas avec tous les anticorps et des effets délétères ont été décrits notamment lorsqu'ils ont été générés après vaccination.

3.5.2. Réponses Ac contre le MERS-CoV

Nombre de résultats ressemblent à ceux observés avec l'infection par le SARS-CoV-1. On notera ainsi que la réponse Ac survient en général 2 à 3 semaines après l'infection (137, 138), qu'elle est d'autant plus importante que la maladie a été symptomatique et que la durée de persistance est d'environ deux ans (139, 140). L'utilisation d'anticorps neutralisants anti-MERS-CoV s'est par ailleurs avérée efficace en prophylaxie dans un modèle murin d'infection par ce virus (141).

3.5.3. Réponses cellulaires

3.5.3.1. Réponse cellulaire contre le SARS-CoV-1

L'étude de la réponse après infection par les coronavirus responsables de pathologies graves (SARS-CoV-1 et 2, MERS-CoV) est rendue difficile à la phase aiguë de l'infection par l'existence à ce stade d'une lymphopénie qui participe d'ailleurs à l'évolution de la réplication virale. Cependant, les études effectuées montrent l'importance des réponses lymphocytaires T. Après infection, les réponses lymphocytaires sont de type CD4+ et CD8+ et sont dirigées contre les protéines S, N et M (cf. figure 3) (142).

Il est important de noter que dans le modèle d'infection SARS-CoV-1 chez la souris la réponse cellulaire T est nécessaire et suffisante pour contrôler la réplication du virus (143). Toutefois, la qualité de cette réponse est importante et un excès de réponse lymphocytaire T CD4+ de type Th2 a pu être associé à un mauvais pronostic, bien que ceci ait été remis en question (cf. plus loin immunopathologie) (144, 145).

Chez l'Homme, la réponse lymphocytaire T persiste plus longtemps que la réponse humorale : pendant plus de 10 ans chez certains patients, étant détectable y compris chez des patients n'ayant pas présenté de réponse anticorps décelable (17, 146-148).

3.5.3.2. Réponse cellulaire contre le MERS-CoV

Comme dans l'infection SARS-CoV-1, la réponse lymphocytaire T semble jouer un rôle primordial au cours de l'infection par le MERS-CoV. L'importance de la lymphopénie dans cette infection fait que les réponses lymphocytaires T ne sont pas détectables avant la phase de convalescence l'intensité de la réponse précoce lymphocytaire T CD8+ étant corrélée avec la sévérité de la maladie (149).

Comme au cours de l'infection par le SARS-CoV-1, la réponse lymphocytaire T anti-MERS-CoV semble persister plus longtemps et être présente même en l'absence de réponse Ac (140). Si certains modèles animaux semblent indiquer son importance dans la clairance virale (150), d'autres insistent sur le rôle de cette réponse dans la physiopathologie de la maladie (cf plus loin) (151).

3.5.3.3. Réponses adaptatives contre les coronavirus : balance entre protection et immunopathologie

Réponses anticorps facilitantes

Ce type d'effet a été décrit avec d'autres infections virales (dengue, infection VIH, etc.) mais est également bien connu avec des infections avec d'autres coronavirus notamment ceux infectant les animaux (59). Les effets délétères des anticorps peuvent s'associer à plusieurs mécanismes, certains étant médiés par le fragment Fc de ces anticorps et peuvent aboutir soit à une réponse inflammatoire exagérée soit à une diffusion de l'infection *via* l'infection des macrophages.

Plusieurs équipes ont observé qu'*in vitro* l'adjonction d'anticorps anti-protéine S de SARS-CoV-1 augmentait l'infection des macrophages par le virus ou des particules lentivirales pseudotypées (152-154). Cette facilitation de l'infection ADE (*Antibody-Dependent Enhancement*) des auteurs anglo-saxons, dépend de la présence et de la capacité de signalisation des récepteurs au fragment Fc des IgG de la famille Fc γ RII (153, 154). Certains auteurs ont suggéré que l'effet neutralisant des anticorps anti-S pouvait être fonction de la concentration de ceux-ci : des concentrations élevées d'anticorps étant susceptibles de neutraliser l'infection *in vitro*, alors que des concentrations moins importantes favoriseraient l'infection et l'induction d'apoptose (153).

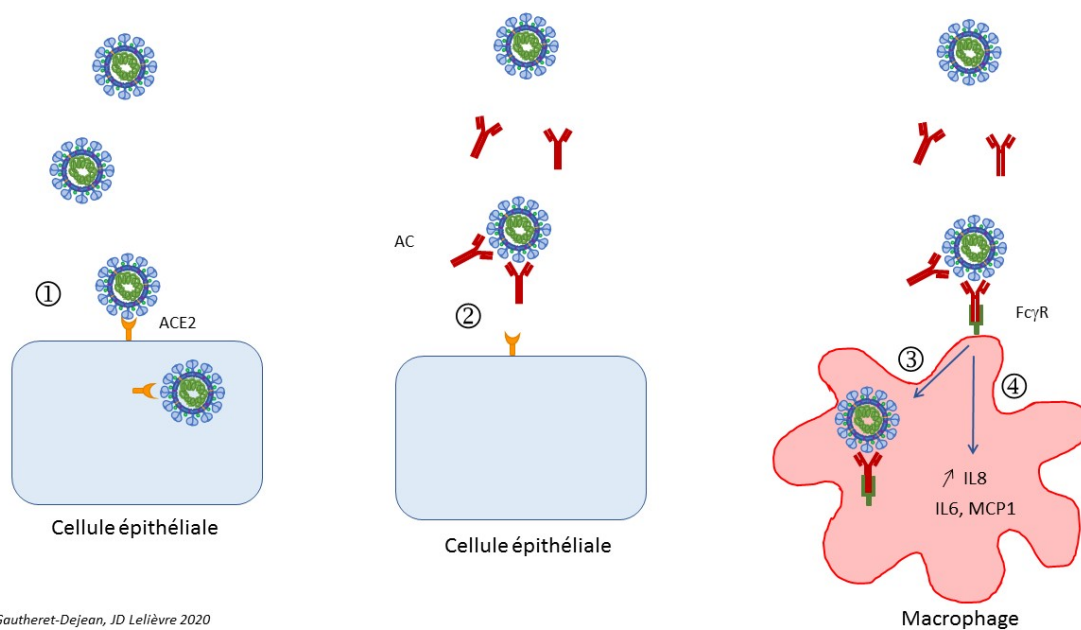


Figure 4 : Phénomène d'ADE (antibody dependant enhancement)

Légende : Effet des anticorps au cours des infections par le SARS-CoV-1

En l'absence d'anticorps le virus infecte les cellules épithéliales pulmonaires.

Les anticorps neutralisants bloquent la fixation du virus sur son récepteur l'ACE2.

Les anticorps se fixent sur le virus par leur fragment Fab mais également aux macrophages via leur fragment Fc grâce aux récepteurs spécifiques présents sur ces cellules (Fc γ R). Les anticorps facilitent ainsi l'infection des macrophages et la diffusion de l'infection. Ce mécanisme a été décrit dans le contexte des infections par les coronavirus animaux mais pas au cours de l'infection SARS-CoV-1 (Iwasaki A & Yang Y. Nature Reviews Immunology, 2020)

La fixation du fragment Fc sur le récepteur Fc γ R peut ne pas favoriser l'infection mais induire une modification de la polarisation des macrophages alvéolaires qui adoptent un statut pro-inflammatoire caractérisé par la production accrue d'IL8, d'IL6 et de MCP-1 (Liu et al., JCI Insight, 2019).

Une étude menée en 2019 par Liu *et al.* dans le modèle d'infection SARS-CoV-1 chez le macaque a mis en évidence le rôle délétère de l'induction d'anticorps anti-S (155). L'infection des macaques chinois par le SARS-CoV-1 se caractérise souvent par un contrôle rapide de la réplication virale sans apparition des lésions pulmonaires caractéristiques de l'infection chez l'Homme (156). Les résultats de l'étude de Liu *et al.* suggèrent que cette différence réside dans un contrôle rapide de la réplication virale dans les poumons. Celle-ci a culminé entre 24 et 48 heures après l'inoculation et diminué dans les 7 jours, bien avant la production d'anticorps. Or, la vaccination préalable des singes avec un vaccin de type MVA codant la protéine S de SARS-CoV-1 ou l'administration précoce d'anticorps neutralisants anti-S, s'ils induisent un contrôle de la réplication virale, sont à l'origine de lésions pulmonaires identiques à celles observées chez l'Homme en biaisant la réaction de résolution de l'inflammation.

Les auteurs montrent que les macrophages alvéolaires subissent une polarisation fonctionnelle démontrant simultanément des propriétés pro-inflammatoires et caractéristiques de cicatrisation. Toutefois, la présence d'anticorps anti-S avant la clairance du virus abolit les phénomènes de cicatrisation, induit la production de MCP-1 et d'IL-8 et le recrutement et l'accumulation de monocytes/macrophages pro-inflammatoires. De manière intéressante, les auteurs observent que l'adjonction de sérums provenant de patients décédés du SARS-CoV-1 induit des modifications des macrophages avec notamment, comme dans le modèle macaque vacciné, production de MCP-1 et d'IL-8, alors que le blocage de FcγR réduit cet effet.

Dans les modèles murins plusieurs auteurs ont attribué l'apparition de changements immunopathologiques ou d'exacerbation de la maladie (ADE) à la présence d'anticorps anti-N ou d'Ac non neutralisants ou de niveaux suboptimaux d'Ac neutralisants, induits par l'immunisation avec un virus inactivé seul ou adjuvanté avec de l'aluminium (157-160). Du point de vue histologique, cet effet est associé à un infiltrat pulmonaire par des polynucléaires éosinophiles très évocateurs d'une réponse Th2. Cet effet ADE semble clairement médié pour certains par les anticorps anti-spike (153), même si d'autres ont pu mettre en évidence un tel effet avec des anticorps anti-nucléocapside dans un modèle murin avec du SARS-CoV-1 (159). Une équipe a pu par ailleurs montrer que les anticorps facilitants seraient dirigés contre des épitopes particuliers (138). Cette étude indique qu'un anticorps (mAb43-3-14) ciblant un épitope linéaire spécifique (S597–603) de la protéine spike du SARS-CoV-1 peut induire un effet ADE à la fois *in vitro* et chez les primates non humains. A l'inverse, les anticorps dirigés contre le domaine RBD semblent protecteurs.

A noter que ce type d'effet ADE a également été observé avec un vaccin inactivé dans le contexte du MERS-CoV (161).

Immunopathologie médiée par les lymphocytes T

Lors des premières expériences de vaccination anti-SARS-CoV-1 chez l'animal, on a pu observer après challenge viral post-vaccinal des lésions histopathologiques pulmonaires ou hépatiques caractérisées par une infiltration importante par des lymphocytes, monocytes et éosinophiles (157).

Au cours de l'infection chez l'Homme, la qualité de la réponse lymphocytaire et notamment CD4+ est importante et un excès de réponse lymphocytaire de type Th2 a été associé à un mauvais pronostic (144, 145). Toutefois, plus qu'un excès de réponse Th2, certains auteurs évoquent plutôt le rôle délétère d'une réponse CD4+ de type Th17 (162, 163). Ceci a des implications évidentes pour les stratégies vaccinales nécessitant le recours à des adjuvants, sachant que l'aluminium connu pour favoriser la réponse Th2 aurait plutôt un effet protecteur de ces mécanismes immunopathologiques (157).

Réponses post-vaccinales

La résolution rapide des épidémies de SARS-CoV-1 et MERS-CoV et leur faible ampleur a stoppé le développement des vaccins contre ces infections virales, mais ce développement est considéré comme prioritaire par nombre d'observateurs dont l'OMS. Des résultats préliminaires d'essais cliniques de phase 1/2 permettent d'apprécier la réponse immunitaire post-vaccinale (les différents candidats vaccins seront développés plus loin). Les résultats de ces essais sont synthétisés dans le tableau 6.

On retiendra :

- 1) Globalement une bonne tolérance des vaccins ;
- 2) Un taux de séroconversion élevé à la fin des schémas vaccinaux mais avec un effet qui s'épuise au cours du temps et une faible induction d'anticorps neutralisants ;
- 3) Une réponse T (ELISPOT IFN γ) plus importante et qui semble se maintenir au long cours.

Tableau 7 : Les études de phase 1 avec vaccins anti SARS CoV-1 et MERS-CoV

Virus	Type de vaccin	Nombre d'injections	Nombre de sujets	Réponse Ac (ELISA)	Réponse Ac (Neutralisation)	Réponse T (ELISPOT IFNg)	Référence
SARS-CoV-1	Inactivé 2 doses	2 (J0, J28)	36	87% (75-100) à J56 78% (67-91) à J 210	95% (91-100) à J56	ND	Lin <i>et al.</i> , 2007 (164)
SARS-CoV-1	ADN (protéine S) 1 dose 4mg	3 (J0, J28, J56)	10	80% sur ensemble 75% à S32	Pic ? 60% à S32	70% de répondeurs sur ensemble essai	Martin <i>et al.</i> , 2008 (165)
MERS-CoV	ADN (protéine S) 3 doses	3 (S0, S4, S12)	75	94% après 3 inj 79% à S60	39% après 3 inj 3% à S60	76% après 3 inj 64% à S60	Modjarrad <i>et al.</i> , 2019 (166)
MERS-CoV	ChAdOx1 (protéine S) 3 doses	1	24	92% J28 68% m12	44% à J28, M12 ? (surtout high dose)	100% (?) maintien à M12 (expression SFC dans l'article)	Folegatti <i>et al.</i> , 2020 (3)
MERS-CoV	MVA (protéine S) 2 doses	2 (J0, J28)	26	83% (67-100) D56 14% (0-27) J180	25% (18-59) J42 9% J180	83% de répondeurs sur ensemble essai 55% de répondeurs à J180	Koch <i>et al.</i> , 2020 (167)

Conclusion

Au total, les résultats des études de la réponse immunitaire après infection par les virus SARS-CoV-1 et MERS-CoV sont les suivants :

1. Concernant la réponse anticorps :
 - a) présence d'une activité anticorps neutralisante dirigée contre la protéine S dont on a pu montrer la fonction protectrice chez l'animal (transfert passif d'anticorps et vaccins) ;
 - b) mise en évidence dans le modèles murin d'un effet d'exacerbation de la maladie (ADE) en relation avec la présence d'anticorps anti-N ou anti- spike avec des vaccins anti SARS-CoV-1. Cet effet a été également retrouvé dans le modèle NHP d'infection SARS-CoV-1 avec apparition d'une réponse anticorps délétère suite à la vaccination avec un vaccin MVA codant pour protéine spike. Cet effet ADE est associé à une activation des macrophages via le fragment Fc induisant leur polarisation vers une activité pro inflammatoire . Un tel effet d'activation inapproprié des macrophages a également observé également in vitro avec des sérums de sujets ayant présenté des formes graves de la maladie. A noter l'implication dans cet effet ADE 1) de la quantité d'anticorps neutralisants phénomène observé in vitro mais pas in vivo dans le modèle NHP cité précédemment, 2) de la spécificité des anticorps avec un rôle pathogène d'anticorps dirigés contre des épitopes situés en dehors du RBD de la protéine spike.
 - c) durée relativement courte (2 à 3 ans) de persistance des anticorps ainsi que de la réponse B mémoire, bien que cette notion ait été remise en question en question par des publications récentes indiquant la persistance d'une activité neutralisante 10 ans post infection.
2. Concernant la réponse lymphocytaire T contre ces virus :
 - a) importance de celle-ci dans la réponse immunitaire contre le virus ;
 - b) importance de la balance Th1/Th2 de la réponse T CD4+, l'excès de réponse Th2 étant pour certains auteurs associé à un mauvais pronostic ;
 - c) durée de persistance de la réponse lymphocytaire T beaucoup plus longue (>10 ans).
3. Concernant les essais vaccinaux contre ces virus :
 - a) données uniquement de phase 1 et mieux documentées pour MERS-CoV
 - b) bonne tolérance globale des vaccins ;
 - c) un taux de séroconversion élevé à la fin des schémas vaccinaux mais avec un effet qui s'épuise au cours du temps et une faible induction d'anticorps neutralisants (25 à 40% et moins de 10% à 1 an) ;
 - d) une réponse T (ELISPOT IFN- γ) plus importante et qui semble se maintenir au long cours.

3.5.3.4. 5. Réponses adaptatives contre le SARS-CoV-2

Réponses anticorps

L'analyse de la réponse anticorps au cours de l'infection par le SARS-CoV-2 est déterminante car cette réponse est l'élément clef de la recherche vaccinale. Les études au cours des infections à SARS-CoV-1 et MERS-CoV ont montré le rôle important que pouvait avoir la réponse neutralisante même si l'importance de celle-ci n'a pu être formellement déterminée au cours d'essais vaccinaux de phase 3. Depuis le début de la pandémie, de nombreuses études sont parues sur l'analyse de la réponse anticorps qui est dès lors de mieux en mieux caractérisée. Si la réponse humorale après infection naturelle peut être intéressante pour la mise au point d'un vaccin, il faut garder à l'esprit que l'infection *via* l'action de certaines protéines virales (168) peut moduler la réponse immunitaire (169) et perturber notamment, pour la réponse humorale, la formation des centres germinatifs (170). En conséquence, il convient de garder à l'esprit que des paramètres comme la durée de la réponse après infection naturelle ne sont pas forcément transposables à la réponse attendue après vaccination.

Il est important de comprendre que les études publiées à ce jour ont fait appel à différents types de tests. La sensibilité et parfois la spécificité des techniques sérologiques sont calculées par rapport au résultat de la PCR et non par rapport au fait d'être infecté ou non dans l'absolu. Certaines études analysent la spécificité à partir de sérums prélevés avant le début de la pandémie (ce qui constitue une spécificité au sens strict). L'analyse de la spécificité vis-à-vis des coronavirus banals, du SARS-CoV-1 et du MERS-CoV est importante à prendre en compte. Une synthèse des différentes populations et des tests correspondants disponibles à partir des études publiées est présentée dans le tableau 7 :

- EIA : utilisation de protéines de nucléocapside et RBD (171)
- CMIA : utilisation de protéine N (172)
- CLIA : utilisation de protéines N et S (173)
- ELISA : utilisation de protéines de nucléocapside exprimées dans des *E. coli* (174) ou le domaine extramembranaire de S exprimé dans HEK-293 T et les domaines S1, RBD exprimés en cellules 293T (175) et domaine S1 avec kit commercial (EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, <https://www.euroimmun.com>) (175), nucléocapside ou domaine extramembranaire de la protéine S trimériques (176), protéine S ou RBD (177), protéines S1, S2 ou RBD (178), RBD ou protéine de nucléocapside (179), RBD (180), puis ensuite des Kits commerciaux
- High-density peptide arrays : permet de faire l'étude épitopique de la réponse (181)
- Immunofluorescence : elle est effectuée sur des cellules Vero B4 exprimant des protéines S de SARS-CoV-2 (182)
- Immunochromatographie : utilisation comme protéine du RBD dans l'étude en question (cf. figure 2) ou d'autres antigènes (183, 184)
- LIPS : reconnaît divers antigènes y compris des protéines S et N par immunoprécipitation (176)
- Neutralisation : les tests de neutralisation nécessitant un laboratoire de type BSL3, ce sont souvent des tests de pseudo-neutralisation qui sont effectués avec des pseudovirus exprimant la protéine d'enveloppe du SARS-CoV-2 (160-162), mais des tests de neutralisation en plaque ont également été réalisés (159, 160, 166)
- S-Flow assay : basé sur la reconnaissance de la protéine S au niveau de la surface en cytométrie de flux (176).

Tests de séroneutralisation avec du SARS-CoV-2 ① ou un pseudovirus ②

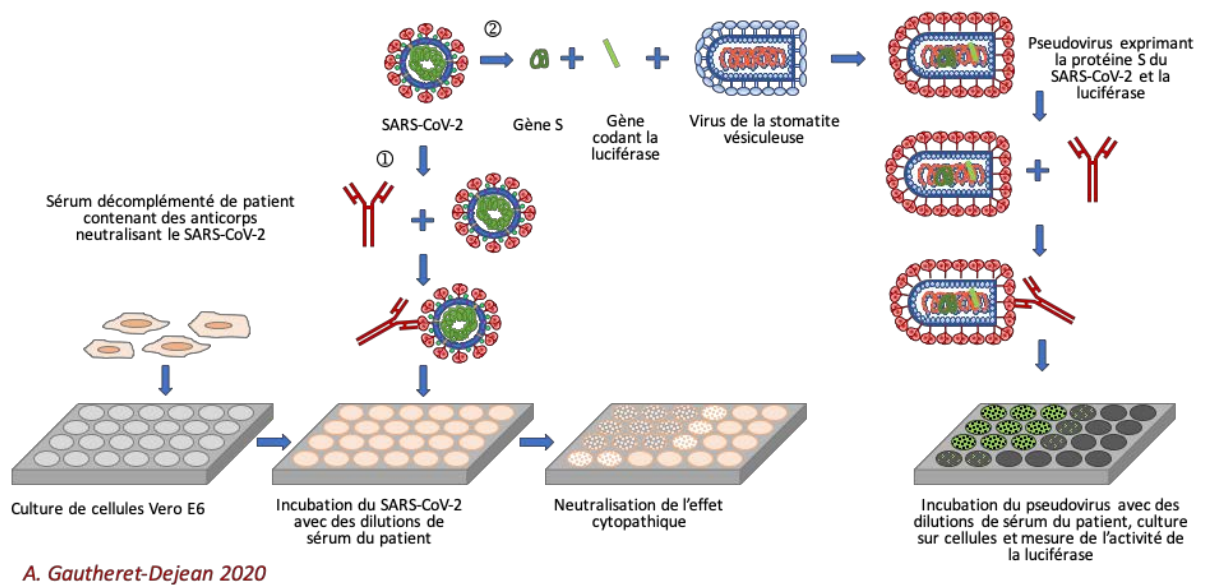


Figure 5 : Les tests de neutralisation avec du SARS-CoV-2 ou un pseudovirus

Légende

1- Des particules virales infectieuses de SARS-CoV-2 sont incubées avec des dilutions de sérum décomplémenté de patient contenant (ou non) des anticorps neutralisants anti-SARS-CoV-2. Le mélange est mis sur des cellules Vero E6 préalablement cultivées en plaque. Au bout de quelques jours, la neutralisation de l'effet cytopathique sera observée au microscope et exprimée comme la plus forte dilution de sérum permettant la neutralisation de 100% de l'effet cytopathique.

2- Le gène S du SARS-CoV-2 codant la protéine spike et le gène codant la luciférase sont introduits dans le virus de la stomatite vésiculeuse. Le pseudovirus obtenu exprime la protéine S à sa surface. Il est mis en contact avec des dilutions de sérum de patient contenant (ou non) des anticorps neutralisants anti-SARS-CoV-2. Le mélange est mis sur des cellules sensibles au pseudovirus préalablement cultivées en plaque. Au bout de quelques jours, la neutralisation sera mesurée par diminution de la luminescence et exprimée en dilution inhibitrice 50% (EC50) qui est la dilution de sérum qui permet de diminuer de 50% les unités de lumière relatives (RLU). On peut aussi utiliser un pseudovirus lentiviral exprimant la protéine S et le gène rapporteur GFP (ou de la luciférase).

Spécificité de la réponse anticorps

La réponse humorale au cours de l'infection SARS-CoV-2 est dirigée contre de très nombreux antigènes du virus (protéine S et ses composants, nucléocapside, ORF9b, nsp5, et autres (cf. tableau 7), la réactivité semblant plus forte contre certaines protéines par exemple contre la protéine S entière que contre le RBD (161). Plusieurs auteurs ont signalé l'absence de réactivité croisée des anticorps anti-SARS-CoV-2 avec les coronavirus banals (229E, NL63 et OC43), et/ou plusieurs autres virus respiratoires (adénovirus, bocavirus, entérovirus, Métapneumovirus humain, Influenza A et B, rhinovirus, virus respiratoire syncytial, virus para-influenza-1 et -3). Par contre, une réactivité croisée existe possiblement avec le SARS-CoV-1 pour les anticorps dirigés contre les protéines S1, RBD et N, et avec le MERS-CoV uniquement pour les anticorps dirigés contre la protéine N (174, 175, 177, 178).

Tableau 8 : Protéines du SARS-CoV-2 ciblées par la réponse immunitaire adaptative

	ORF1a	ORF1b	S	ORF3	Env	MP	ORF6	ORF7a	ORF7b	ORF8a	ORF8b	NC	ORF9b	ORF10
Anticorps									.					
Anticorps Neutralisants									.					
Réponse CD4+														
Réponse CD8+														

d'après Poland *et al.*, 2020 (185)

Légende : S : protéine spike ; Env : protéine d'enveloppe ; MP : protéine de membrane ; NC : protéine de nucléocapside

Tableau 9 : Réponse immunitaire adaptative en fonction du statut infectieux vis à vis du SARS CoV2

Statut SARS-CoV2	Ac sériques	Ac muqueux	Réponses lymphocytaires T
Symptômes modérés à sévères	+	+	+
Paucisymptomatiques ou asymptomatiques	Possible négatifs	+	+
Non infectés (contacts ou ayant été infectés avec d'autres coronavirus)	Négatifs	Négatifs (?)	Possible positives

Isotype de la réponse

Comme habituellement, l'apparition des anticorps de type IgA et IgM est plus précoce que la réponse IgG, les IgA étant les plus précoces dès J7 avec un pic à J22 (171, 174, 180, 186). Cette réponse est d'autant plus précoce que la sévérité de la maladie l'est (181).

L'activité neutralisante des IgA a été montrée comme supérieure à celle des IgG, ce qui peut poser des problèmes quant à sa persistance au cours du temps, les IgA ayant tendance à disparaître rapidement (cf plus loin) (187). Certains auteurs ont détaillé la réponse IgG montrant qu'elle est de type IgG1, et surtout IgG3 dont on connaît la plus courte demi-vie (177).

Réponse neutralisante

La réponse neutralisante est dirigée contre les protéines de l'enveloppe virale à savoir principalement contre la protéine spike S et la protéine de nucléocapside N. La protéine S1 est la principale cible de la réponse neutralisante (188, 189). Plusieurs études ont montré une bonne corrélation entre la réponse détectée en ELISA et l'activité de neutralisation (175, 177). Une équipe a pu montrer qu'un faible taux d'anticorps était associé à une clairance virale plus rapide suggérant un possible effet délétère de la réponse anticorps (190). Cependant, une analyse plus fine a pu montrer que le taux d'anticorps neutralisants n'était pas associé avec la sévérité de la maladie (191).

Cinétique de la réponse

Les anticorps dirigés contre les différentes protéines ont des cinétiques différentes, les anticorps anti-N apparaissent un peu plus tôt que les anticorps anti-S (176). Dans les cas graves et critiques, la séroconversion est détectable dès 5 à 14 jours après l'apparition des symptômes.

L'ensemble des patients développent des anticorps neutralisants après 3 semaines (176).

Les patients les moins symptomatiques tendent à perdre plus rapidement leur réponse anticorps que ceux ayant présenté une forme plus sévère (190, 192, 193).

A noter toutefois que certains auteurs évoquent la possibilité que les anticorps produits chez les patients les plus sévères soient de moins bonne qualité et longévité, l'importance du syndrome inflammatoire chez ces sujets empêchant le changement d'une production extra folliculaire *via* celle plus pérenne et plus puissante effectuée à travers la constitution de centres germinatifs sévère (190, 192, 193).

L'évolution de la réponse anticorps varie selon l'isotype. En effet, si le délai de réversion de la réponse anti-RBD est estimé à 49 et 71 jours pour les IgM et les IgA respectivement, la disparition de la réponse IgG anti-RBD semble rare 3 mois post-infection sévère (190, 192, 193).

Modulation de la réponse en fonctions de différents paramètres cliniques hors sévérité de la maladie

Plusieurs auteurs ont étudié l'impact d'autres facteurs que la sévérité de la maladie (par exemple, l'âge, la race, l'origine ethnique, le sexe, l'indice de masse corporelle et le statut tabagique) sur la réponse humorale contre le SARS-CoV-2. L'âge et le sexe semblent des éléments importants à prendre en considération. Plusieurs équipes ont ainsi montré que les sujets les plus âgés (60-85 ans) et les patients d'âge moyen (40-59 ans) avaient des titres d'anticorps neutralisants significativement plus

élevés que les jeunes patients (15-39 ans) (162, 180). Le genre semble également important, les hommes ayant des taux d'anticorps neutralisants plus élevé que les femmes (180, 181).

Sensibilité de la réponse

Les résultats de plusieurs équipes mettent en évidence que tous les patients infectés ne développent pas de réponse anticorps (180, 181). Ainsi, Wu *et al.* ont individualisé plusieurs groupes de patients en fonction du niveau d'AcN. Ils représentaient respectivement : groupe 1 : 5,7% (non répondeur) ; groupe 2 (faible) : 24,3% groupe 3 : 17% (faible-moyen), groupe 4 : 39% (moyen-haut), groupe 5 : 14% (haut). Par ailleurs, le taux d'AcN était significativement plus élevé chez les patients plus âgés (15-39 ans *versus* 40-59 ans *versus* 60-80 ans) (162). L'ensemble évoque que l'on peut guérir de l'infection en l'absence d'AcN et que ceci est particulièrement vrai pour les plus jeunes et les patients asymptomatiques, faisant évoquer l'existence d'autres réponses impliquées dans la clairance virale (réponses lymphocytaires T et réponses muqueuses). Ainsi, une équipe a récemment rapporté la présence d'une réponse IgA anti-SARS-CoV-2 muqueuse en l'absence de réponse systémique – dans 15-20% des cas – qui semblerait plus fréquente chez les patients les plus jeunes (194). Comme observé dans d'autres infections des voies aériennes, les patients présentant des formes modérées localisées au niveau des VARS ne développeraient que des réponses locales et pas de réponses systémiques (195, 196).

Tableau 10 : Premières études sérologiques au cours de l'infection par le SARS-CoV-2

Patients nombre et genre	Stade	Test utilisé	Références
7 patients convalescents (16 sérums/plasmas sérums prépandémiques (automne 2019) avec ± autre infection (NL63, dengue, chickungunya..) et plasma de sujets VIH positifs (entre 2008 et 2009) Genre non précisé	7 patients : 7 S, 4 M, 1 asymptomatique, 4 ?	ELISA Neutralisation	Amanat <i>et al.</i> , 2020 (177)
1020 patients avant pandémie 125 patients (689 sérums) patients PCR positive 4856 sujets tout venant (54,2% de femmes, âge 0 à >80 ans) Genre non précisé pour tous les groupes	Non précisé	CMIA (Architect d'ABBOTT)	Bryan <i>et al.</i> , 2020 (172)
4 patients 2 F, 2 H	1 S, 1 M, 2B	High-density peptide arrays	Dahlke <i>et al.</i> , 2020 (181)
Nombre variable de patients selon technique : 491 patients avant pandémie 209 paucisymptomatiques 51 patients hospitalisés (161 sérums) 200 donneurs de sang Patients pour neutralisation pas clair Genre non précisé	Patients symptomatiques (51 hospitalisés, probablement sévères, 209 M/B). Beaucoup sans confirmation PCR.	ELISA, S-Flow, LIPS, Neutralisation	Grezlak <i>et al.</i> , 2020 (176)
Cohorte 1 : 101 patients (43 cas PCR positive [69 plasma], 58 PCR négative mais clinique spécifique [100 plasmas]) Cohorte 2 : 39 patients hospitalisés Cohorte 3 : 6 patients	Cohorte 1 43 PCR positive (20 S, 23 M/B) 58 PCR négative (5 sévères, 53 M/B) Cohorte 2 8S, 31 M/B Cohorte 3 (famille)	ELISA	Guo <i>et al.</i> , 2020 (174)

Patients nombre et genre	Stade	Test utilisé	Références
135 patients avant pandémie (2018) avec signes respiratoires dont hCoV-229E, -NL63, -OC43, -HKU1, and SARS-CoV 150 sujets sains 2018-2019 Genre non précisé	6 dont 2 PCR+ 1 TDM+		
43 patients PCR positive (26 F, 17 H) 33 patients PCR négative suspects exclus (11 F, 22 H)	Pas de détails sur stade	CLIA	Jin <i>et al.</i> , 2020 (173)
397 patients COVID-19 positifs sur la clinique 128 sans signes Genre non précisé	Pas de détails sur stade et si infection confirmée ou non par PCR	Immunochromatographie	Li <i>et al.</i> , 2020 (183)
22 cas (2 cohortes) Genre non précisé	Cohorte 1 (France) 2 M/B, 1 S Cohorte 2 (Allemagne) 19 patients	ELISA Neutralisation	Okba <i>et al.</i> , 2020 (175)
24 patients (51 sérums) 12 sérums de patients convalescents d'infection à HCoV-229E (n = 2), HCoV-NL63 (n = 3), HCoV-OC43 (n = 4) or HCoV-HKU-1 (n = 3) 200 donneurs de sang avant la pandémie (06/2017 à 08/2017)	Patients 7 S, 12 M, 5 B	ELISA Neutralisation	Perera <i>et al.</i> , 2020 (180)
23 patients PCR positive (108 sérums) 10 F, 13 H	10 S, 13 M	EIA Neutralisation	To <i>et al.</i> , 2020 (171)
Total testés 288 : 79 patients PCR positive (128 plasmas/sérums) (25 F, 54 H)	Patients PCR positive symptomatiques (29 S, 36 M, 14 B)	Immunochromatographie (10) ELISA (2)	Whitman <i>et al.</i> , 2020 (184)

Patients nombre et genre	Stade	Test utilisé	Références
108 donneurs de sang avant la pandémie (<07/2018 plasma) 52 patients non-COVID-19 avec Filmarray positif pour autre virus respiratoire 32 prélèvements de patients PCR négative			
9 patients Genre non précisé	Formes B/M	Immunofluorescence Neutralisation	Wölfel <i>et al.</i> , 2020 (182)
175 patients 53% de femmes	Formes B/M (tous PCR+)	ELISA Neutralisation	Wu <i>et al.</i> , 2020 (178)
173 patients hospitalisés (535 plasmas) 89 F, 84 H	PCR en parallèle 32 S, 141 B/M	ELISA	Zhao <i>et al.</i> , 2020 (179)

Légende :

B : forme bénigne ; M : forme modérée ; S : forme sévère ; C : forme confirmée par PCR ; NC : non confirmée

Réponses lymphocytaires T

Analyse quantitative et phénotypique

Comme au cours des autres infections graves à coronavirus, le COVID-19 est marqué à la phase aiguë par une lymphopénie dont la profondeur est un marqueur de la sévérité de l'infection (188). Les données disponibles durant la phase aiguë de la maladie portant sur des analyses phénotypiques mettent en évidence, comme dans d'autres infections virales, l'existence d'une activation des lymphocytes T CD4+ et CD8+ (expression notamment des molécules HLA DR et CD38) qui semble différente en fonction du stade de la maladie (197).

Analyse qualitative

Une des premières études publiées sur la réponse T anti-SARS-CoV-2 portait sur 20 patients (190). Elle permettait de montrer des résultats intéressants avec des implications en termes de conception de vaccins et d'évolution de la pandémie dans les années à venir. Tous les patients ont eu une COVID-19 confirmée par PCR, et les études ont été réalisées à distance de la phase aiguë (J20-J35). Les auteurs ont retrouvé des réponses T CD4+ chez 100% des patients. Ces réponses couvraient la protéine S mais de manière plus fréquente qu'au cours des autres infections à coronavirus, et également d'autres protéines comme M, N et Nsp. Les réponses T CD8+ semblaient un peu moins fréquentes mais présentes toutefois chez 70% des patients. Les réponses T CD8+ étaient également dirigées vers plusieurs protéines, les réponses anti-S ne représentant que 26% de l'ensemble. Des données plus récentes indiquent que la réponse T est en fait beaucoup plus largement dirigée contre toutes les protéines, la réponse T CD4+ étant plus étendue et plus importante dans les formes sévères. Cependant, c'est l'inverse qui est observée dans les formes modérées avec cette fois-ci une prépondérance de la réponse T CD8+ (198).

D'autre part, et contrairement à ce qui est observé pour les anticorps, les auteurs retrouvent une réactivité croisée notable de la réponse spécifique T CD4+ anti-SARS-CoV-2, et de manière moins importante T CD8+, avec des réponses contre des coronavirus banals (HCoV-OC43 et NL63) (190). Cette réactivité croisée a été observée par d'autres auteurs. Le Bert *et al.* montrent que le type de protéine contre lequel est dirigée la réponse T est différent chez les patients ayant présenté une infection à SARS-CoV-2 comparativement à ceux qui n'ont pas été infectés. On note une surreprésentation des réponses anti-NSP7 et -NSP13 chez ces derniers, alors que ces réponses étaient minoritaires chez les sujets ayant présenté une COVID-19 (199). Ceci s'accorderait avec l'histoire clinique de ces sujets, ces protéines étant exprimées précocement durant le cycle viral des coronavirus (200). Sekine T *et al.* ont pu caractériser la réponse immunitaire adaptative dans différents groupes de patients : chez les patients atteints de COVID-19 aigu, modéré ou grave, les personnes en phase de convalescence après une COVID-19 légère ou grave, les membres de la famille exposés et les personnes en bonne santé ayant donné du sang avant (2019) ou pendant la pandémie (2020). Ils ont observé, comme précédemment, la présence d'une réponse lymphocytaire T chez des sujets n'ayant pas fait de COVID-19 mais qui ciblaient ici les protéines S et N évoquant l'existence d'une réaction croisée avec des coronavirus banals mais également chez des sujets infectés par le SARS-CoV-2 mais n'ayant pas de réponses anticorps ainsi que chez des sujets exposés (201). D'autres auteurs ont également retrouvé des réponses T croisant avec des protéines du SARS-CoV-2 chez des individus infectés avec des coronavirus banals (195, 196). On ne connaît pas l'impact de cette réactivité croisée mais, s'il s'avérait qu'elle soit efficace et confère un certain degré de protection contre l'infection ou contre la sévérité de la maladie, alors ceci aurait un impact notable sur le risque de résurgence de nouvelles flambées épidémiques (202). Ceci pourrait conduire également à réfléchir à la diversité des antigènes à inclure dans un vaccin, antigènes qui ne devraient pas à se limiter uniquement à ceux présents dans la protéine S.

Polarisation de la réponse (Th1, Th2, Tfh et Th17)

L'ensemble des données actuelles tend à montrer une polarisation de la réponse vers un phénotype Th1 (185). Comme évoqué avec le SARS-CoV-1 (cf. chapitre), plus qu'un excès de réponse Th1, il semble que ce soit la réponse Th17 qui soit délétère et associée aux réponses inflammatoires excessives (163, 203, 204). Enfin, un défaut de réponse Tfh pourrait expliquer les anomalies de la réponse anticorps notamment chez les patients les plus graves (170).

Réinfections

Alors qu'on dénombre actuellement plus de 53 millions de cas de COVID-19 à travers le monde, le nombre de cas rapportés de réinfection reste anecdotique. L'analyse de ces cas est cependant cruciale pour comprendre l'impact réel de l'immunité adaptative sur le contrôle de l'infection et de la maladie (205). L'excrétion virale pouvant être prolongée (171), il est important de s'assurer au cours d'une suspicion de réinfection que les souches virales ont pu être séquencées et qu'elles sont différentes, analyse qui n'a pas toujours été effectuée dans les études rapportées (206).

Au cours d'une infection virale, une réinfection par un même agent infectieux peut relever de différents mécanismes :

- 1) Une perte de la protection immunitaire comme c'est le cas avec les coronavirus banals (207) ;
- 2) La sélection d'un variant génétique rendant la réponse inefficace, événement régulier au cours de l'évolution des virus grippaux par exemple.

Dans le cas du SARS-CoV-2, le modèle d'infection des singes rhésus macaques montre que les animaux sont protégés à court terme, 35 jours, mais présentent toutefois une multiplication virale au niveau de l'oropharynx (82).

Une équipe de Hong-Kong a rapporté une réinfection chez un patient de 33 ans (208). Dans ce cas clinique, on note les points suivants :

- 1) Une première infection modérément symptomatique et une réinfection qui l'est encore moins ;
- 2) L'absence d'Ac au début du deuxième épisode ;
- 3) Des souches virales différentes lors des deux épisodes.

Dans un éditorial récent (209), Rajesh Gandhi rapporte treize cas de réinfections documentés bien que pour certains les données précises fassent défaut (cf. tableau 10). La plupart sont survenues chez des sujets jeunes en l'absence de problèmes d'immunosuppression. Dans un seul cas, on retrouve la présence d'anticorps initialement (208). Dans un des cas, le virus retrouvé lors du second épisode portait une mutation associée à une résistance à la neutralisation *in vitro* (47).

Tableau 11 : Synthèse des cas de réinfections (adapté de Kim et Gandhi, 2020 (209)) (DNP : données non publiées retrouvées uniquement dans éditorial de Kim AD)

Pays	Age/ Sexe	Délai (semaines)	Sévérité 1 ^{er} épisode	Sévérité 2 nd épisode	CT PCR 1 ^{er} épisode	CT PCR 2 nd épisode	Séquençage (Virus différents)	Ac 1 ^{er} épisode	Ac 2 nd épisode	Référence
Hong Kong	33 / H	17,5	Modérée	Asymptomatique	NR	26,69	Oui	Oui	Non	To <i>et al.</i> , 2020 (208)
USA	25 / H	4,5	Modérée	Sévère	32,24	35,31	Oui	Non	Oui	Tillett <i>et al.</i> , 2020 (210)
USA	42 / H	7	Modérée	Sévère	NR	NR	Oui	ND	Oui	Larson <i>et al.</i> , 2020 (211)
Inde	25 / H	14	Asymptomatique	Asymptomatique	36	16,6	Oui	ND	ND	Gupta <i>et al.</i> , 2020 (212)
Inde	28 / F	14	Asymptomatique	Asymptomatique	28,16	16,92	Oui	ND	ND	Gupta <i>et al.</i> , 2020 (212)
Belgique	51 / F	13	Modérée	Modérée	25,6	32,6	Oui	ND	Oui	van Eslande <i>et al.</i> , 2020 (213)
Inde	24 / F	8	Modérée	Modérée	32	25	?	?	?	Shastri <i>et al.</i> (DNP)
Inde	27 / H	8	Asymptomatique	Modérée	33	36	?	?	?	
Inde	31 / H	3	Asymptomatique	Modérée	36	21	?	?	?	
Inde	27 / H	7	Modérée	Modérée	32	17	?	?	?	
USA	60	12	Sévère	Sévère	22,8	43,3	Oui	ND	Oui	Goldman <i>et al.</i> , 2020 (214)
Equateur	46 / M	7	Modérée	Modérée	NR	NR	?	?	?	Prado-Viva <i>et al.</i> (DNP)
Corée du Sud	21 / F	4	Modérée	Modérée	22,34	32,36	?	?	?	Lee <i>et al.</i> (DNP)

Conclusion

Les données actuellement disponibles laissent à penser que l'infection par le SARS-CoV-2 s'accompagne d'une réponse anticorps essentiellement de type IgA et IgG, la réponse IgM semblant moins importante sans possibilité de savoir si cette moins bonne réponse repose sur une problématique technique. Le taux de séroconversion chez les patients symptomatiques semble élevé avec un pic à J14. Chez les patients moins symptomatiques le pic d'anticorps semble décalé chez ces patients comme cela est le cas au cours de l'infection par le SARS-CoV-1. Si la réponse anticorps est dirigée contre de nombreuses protéines, la réponse neutralisante semble essentiellement dirigée contre la protéine spike. On retrouve une bonne corrélation entre le dépistage des anticorps et une activité neutralisante de ceux-ci dans toutes les études où cette corrélation a été recherchée. La spécificité des anticorps semble très bonne et aucune réactivité croisée n'a été retrouvée avec des infections avec des coronavirus banals alors qu'elle existe dans le cadre d'une infection passée par le SARS-CoV-1. Si certains anticorps ont été responsables d'effets délétères au cours de l'infection à SARS-CoV-1 ou à tout le moins après les essais de challenge post-vaccinaux dans les modèles animaux, ce type d'effet délétère n'a pas été retrouvé à l'heure actuelle au cours de l'infection par le SARS-CoV-2.

Une réponse lymphocytaire T à la fois CD4+ et CD8+ est retrouvée chez les patients infectés par le SARS-CoV-2. Elle est plus fréquente que la réponse anticorps, étant retrouvée également chez les patients asymptomatiques. Cette réponse est dirigée contre de très nombreuses protéines et notamment la protéine S qui est la seule protéine actuellement utilisée dans la très grande majorité des candidats vaccins anti-SARS-CoV-2. La réponse protectrice est de type Th1, cependant qu'une réponse Th17 est visiblement délétère et associée aux manifestations pulmonaires de l'infection. Contrairement à ce qui est observé pour les anticorps, on retrouve une réactivité croisée notable de la réponse spécifique T CD4+ anti-SARS-CoV-2, et de manière moins importante T CD8+, avec des réponses contre des coronavirus banals. On ne connaît pas l'impact de cette réactivité croisée mais, s'il s'avérait qu'elle soit efficace et confère un certain degré de protection contre l'infection ou contre la sévérité de la maladie, alors ceci aurait un impact notable sur le risque de résurgence de nouvelles flambées épidémiques. Ceci pourrait conduire également à réfléchir à la diversité des antigènes à inclure dans un vaccin, antigènes qui ne devraient pas à se limiter à ceux présents uniquement dans la protéine S.

Alors qu'on dénombre actuellement plus de 53 millions de cas de COVID-19 à travers le monde, le nombre de cas rapportés de réinfection reste anecdotique. Ces réinfections au nombre d'une dizaine clairement documentées, parce qu'elles impliquent des virus différents lors des deux épisodes infectieux, ont été observées chez des sujets plutôt jeunes non immunodéprimés. L'absence d'études immunologiques couplées aux études virologiques ne permet malheureusement pas de connaître à l'heure actuelle les raisons de ces réinfections : absence de réponse adaptative initiale, perte de celle-ci ou sélection de variants viraux résistant à cette réponse.

4. Les plateformes vaccinales utilisées pour le développement des vaccins contre le SARS-CoV-2

Au 12 novembre 2020, selon la liste de l'OMS⁴, plus de 200 candidats vaccins contre l'infection par le SARS-CoV-2 sont en cours de développement, dont 48 sont entrés en phase clinique et, parmi eux, 11 font actuellement l'objet d'essais de phase 3.

Au total, huit plateformes technologiques différentes sont utilisées, dont deux n'ont jamais été à l'origine de vaccins encore commercialisés (vaccins à ADN et à ARN)⁵. L'ensemble de ces plateformes comprend : des vaccins utilisant le virus entier (vivants atténués et vaccins inactivés), des vaccins à base de protéines (sous-unités protéiques et vaccins « virus-like particles, VLP »), des vaccins utilisant le matériel génétique viral codant pour certaines protéines (vaccins ARN et ADN et viral répliquatif ou non répliquatif, et (cf. figure 6). Parmi les candidats vaccins en phase 3 de développement, on compte 4 vaccins de type vecteur viral non répliquatif, 4 vaccins inactivés, 2 vaccins ARN et 1 vaccin protéique.

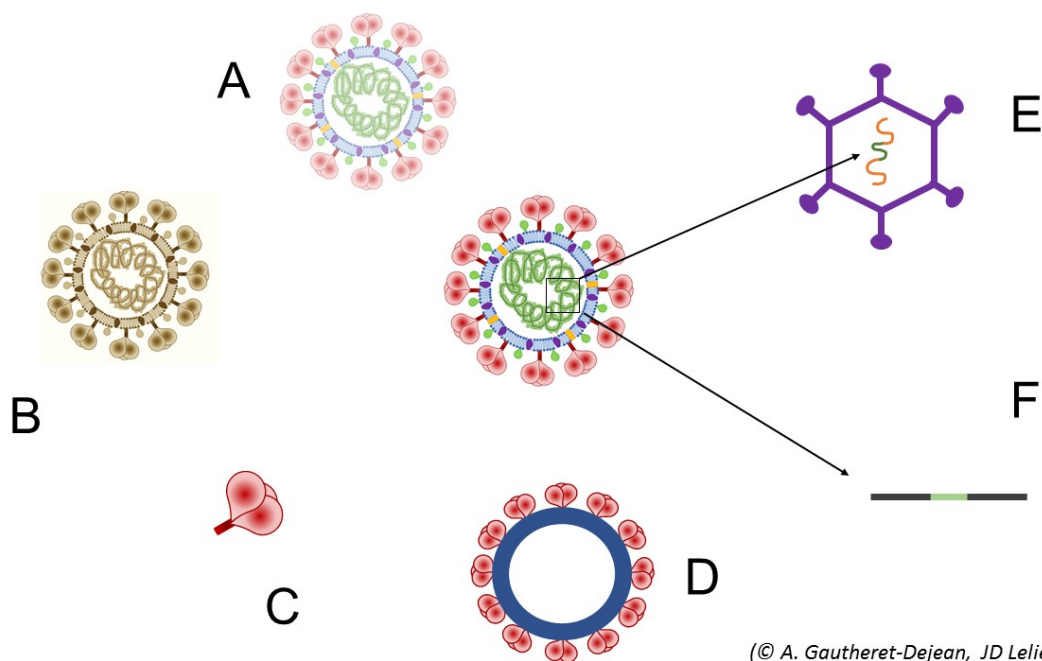
Parmi ces plateformes, seuls les vaccins ADN et ARN n'ont pas d'AMM chez l'Homme dans d'autres indications.

4.1. La question des antigènes

Il a été démontré que les anticorps dirigés contre la protéine spike du virus SARS-CoV-1 pouvaient neutraliser le virus et prévenir l'infection (cf. chapitre). Dès lors, l'immense majorité des vaccins en cours de développement contre le SARS-CoV-2, virus très proche du SARS-CoV-1, contiennent au moins une partie de la protéine spike qui peut être limitée au seul domaine S1 ou au RBD (cf. plus loin). Il est à noter toutefois que plusieurs équipes pensent qu'il pourrait être intéressant d'inclure des épitopes T dans les vaccins pour déclencher une réponse plus large (215). Les candidats vaccins reposant sur ce type d'approche sont à un stade très préliminaire de développement et ne seront pas évoqués ici. Ils reposent toutefois sur l'utilisation du même type de plateformes vaccinales à l'exception des vaccins viraux inactivés et des vaccins protéiques qui ne sont pas susceptibles d'induire une telle réponse, seul le choix des antigènes diffère.

⁴ <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>

⁵ Strategic Advisory Group of Experts on Immunization, World Health Organization. SAGE meeting of October 2020. Background documents [En ligne]. Geneva: WHO; 2020. https://www.who.int/immunization/sage/meetings/2020/october/presentations_background_docs/en/.



(© A. Gautheret-Dejean, JD Lelièvre 2020)

Figure 6 : Les différentes plateformes utilisées dans le cadre du développement des candidats vaccins contre le SARS-CoV-2

Légende :

A : Vaccin vivant atténué

B: Vaccin inactivé

C: Vaccin protéique

D: Virus like particles (VLP)

E: Vecteur viral (adénovirus)

F: Acide nucléique seul (ADN ou ARN)

4.2. Les plateformes vaccinales classiques

Même si des plateformes plus récentes ont largement été utilisées dans les stratégies de développement de vaccin anti-SARS-CoV-2, plusieurs équipes ont eu recours à l'utilisation des plateformes classiques : vaccins vivants atténués, vaccins inactivés et vaccins protéiques (cf. tableau 11).

Tableau 12: Vaccins anti-SARS-CoV-2 et Plateformes vaccinales classiques

Type	Avantages	Inconvénients	Développement clinique vaccin anti-SARS-CoV-2
Vaccins vivants atténués	Meilleur immunogène Plusieurs vaccins disponibles avec d'autres pathogènes	Risque de développement de pathologie Nécessité BLS3 pour préparation	Préclinique
Vaccins inactivés	Bon immunogène Plusieurs vaccins disponibles avec d'autres pathogènes	Nécessité BLS3 pour préparation Difficulté de production de quantités importantes de vaccins	Phase 3 (n=2) Phase 2 (n=2)
Sous-unité protéique et VLP	Facilité d'emploi Plusieurs vaccins disponibles avec d'autres pathogènes	Recours à des adjuvants Structures protéiques non optimales (glycosylation)	Phase 2b (n=1) Phase 2 (n= 2) Phase 1 (n = 3)

4.2.1. Les vaccins vivants atténués (VVA)

L'utilisation de vaccins vivants atténués (VVA) permet d'induire une réponse vaccinale proche des défenses immunitaires naturelles et intègre l'ensemble des propriétés immunostimulantes du pathogène atténué, y compris les éléments activateurs des défenses innées que mimet certains adjuvants (on parle d'« auto-adjuvation »).

Cette approche ne requiert dès lors aucun adjuvant additionnel. La méthode « historique » pasteurienne d'atténuation, après de longues cultures du pathogène, est aujourd'hui remplacée par la délétion ou la modification programmée des gènes responsables de la virulence. Les coronavirus possédant plusieurs gènes qui ne sont pas impliqués dans le processus de réplication, leur délétion est possible et entraîne une atténuation de leur pathogénicité *in vivo*.

La délétion de protéines non structurales a été utilisée dans le développement de vaccins contre diverses zoonoses et contre des coronavirus animaux (216-218), mais un phénomène de réversion du phénotype atténué a été rapporté (219).

Cette problématique est d'autant plus importante qu'il a été démontré que les coronavirus sont susceptibles de recombiner dans l'environnement naturel (220). Dès lors en théorie, un vaccin atténué pourrait recombiner avec un coronavirus sauvage pour recréer une souche sauvage.

Ces vaccins posent également des problèmes de sécurité évidents lorsque l'on s'adresse à des infections potentiellement graves nécessitant de s'assurer de leur parfaite atténuation.

Par ailleurs, la production de ce type de vaccin est rendue compliquée par la nécessité de recourir à des laboratoires de type BLS3. En conséquence, assez peu d'approches vaccinales font actuellement appel à ce type de vaccin dans les stratégies anti-SARS-CoV-2 (cf. tableau 11).

4.2.2. Les Vaccins Viraux Inactivés (VVI)

Des vaccins viraux inactivés (VVI) par voie physique ou chimique ont déjà été développés avec succès chez l'Homme contre la poliomyélite, l'hépatite A et la grippe (221, 222).

Les virus inactivés peuvent être générés et produits rapidement dans un contexte épidémique, à partir de plateformes et selon des méthodes bien établies. Ils provoquent peu de problèmes de tolérance et peuvent exprimer un large éventail d'antigènes viraux, incluant des antigènes de surface (223, 224).

Ces vaccins sont moins immunogéniques que les précédents, induisant une réponse humorale et lymphocytaire T CD4+, mais pas de réponse lymphocytaire T CD8+, qui pourrait toutefois être utile dans la protection/défense contre le SARS-CoV-2. Contrairement aux VVA efficaces en une seule injection, ces vaccins nécessitent habituellement la réalisation de 2 injections en primo-vaccination et souvent l'adjonction d'un adjuvant.

Il existe actuellement 7 candidats vaccins contre le SARS-CoV-2 de type VVI en phase clinique de développement. Le vaccin le plus avancé est le vaccin PiCoVacc® ou CoronaVac® (de Sinovac), adjuvanté avec des sels d'aluminium. Les essais pré-cliniques effectués avec ce vaccin indiquent qu'il protège les macaques rhésus contre le SARS-CoV-2, la protection étant associée à la présence d'anticorps dirigés contre la protéine spike et la nucléocapside. Il n'a pas été mis en évidence d'effet de type ADE malgré la présence d'aluminium adjuvant inducteur d'un profil de réponse lymphocytaire T CD4+ de type Th2 (87). Les résultats de phase 1 et 2 ont montré la bonne tolérance de ce vaccin et son immunogénicité, et il est actuellement en phase 3 de développement (4).

4.2.3. Les vaccins protéiques

Si les vaccins protéiques possèdent un profil de sécurité supérieur, leur immunogénicité est cependant diminuée. L'utilisation de protéines purifiées comme vaccins est associée à un certain nombre de difficultés 1) une possible dégradation rapide *in vitro* 2) l'absence d'induction d'une réponse lymphocytaire T CD8+ 3) la nécessité de recourir à des doses importantes d'antigènes, ceux-ci ne pouvant être produits *in vivo* 4) la nécessité de recourir à des adjuvants 5) un mode de production parfois long et fastidieux (225). Ces questions peuvent toutefois être en partie résolues avec des nouvelles techniques de production. C'est actuellement la plateforme la plus utilisée dans le cadre du développement des vaccins contre l'infection par le SARS-CoV-2.

Différents vaccins protéiques vont pouvoir être produits et ceux-ci vont varier en fonction :

1) Du type de cellules sur lequel ils sont produits (production sur système eucaryote de type cellule d'insecte, levure, voire sur des plantes ou production sur système procaryote comme *E. Coli*) les protéines produites sur les systèmes eucaryotes étant les plus proches de celles produites *in vivo* ;

2) De la structure de la protéine utilisée : si la protéine spike entière est utilisée dans la plupart des vaccins, certains se limiteront à l'utilisation de la partie RBD de cette protéine afin de limiter au maximum les risques d'ADE (cf. chapitre correspondant) ; ce choix expose cependant à un plus grand risque d'éventuelles sélections de mutant échappant à la réponse immunitaire en limitant l'étendue de la réponse anticorps (226), d'autres vaccins utiliseront par contre une partie plus large de la protéine spike mais en y introduisant des modifications visant à la stabiliser et la rendre plus immunogénique (suppression du site de clivage polybasique, inclusion de mutations stabilisatrices) comme c'est le cas du vaccin développé par les firmes Novavax® et Sanofi Pasteur/GSK (protéine S stabilisée en conformation préfusion).

3) des protéines qui pourront enfin être utilisées sous forme isolée, ou sous forme de nanoparticule ou de VLP, augmentant ainsi leur immunogénicité. Les protéines ou les peptides seuls sont très peu immunogènes et nécessitent généralement, comme les VVI, plusieurs administrations pour être efficaces et l'ajout d'un adjuvant. Ainsi, les vaccins sous-unitaires protéiques développés par Sanofi-Pasteur/GSK et Novavax sont respectivement adjuvantés par AS03 et Matrix-M™, favorisant une réponse Th1. Le vaccin protéique le plus avancé est le vaccin NVX-CoV2373 développé par Novavax. Il s'agit d'un vaccin nanoparticulaire produit sur cellules d'insecte SF9 exprimant une protéine spike modifiée (la structure de la protéine S est stabilisée par la génération d'une protéine de préfusion *via* l'introduction de la mutation 83 du site de clivage de la furine et de deux substitutions de la proline 84

à l'apex de l'hélice centrale), associée à l'adjuvant Matrix-M® (227). Ce candidat vaccin est actuellement en phase 3 après avoir montré son intérêt dans des phases 1 et 2 chez l'Homme (8).

4.2.4. Les vaccins VLP

Des vaccins de type pseudo-particules virales (VLP) sont actuellement commercialisés contre le VHB et les HPV (228).

Les pseudoparticules virales sont des particules obtenues par agrégation spontanée de plusieurs protéines virales structurales, qui sont co-exprimées ou mélangées. Dans le cas des coronavirus, les VLP se forment lorsque les protéines virales S, M et E, avec ou sans N, sont co-exprimées dans des cellules productrices eucaryotes (229, 230). Il en résulte un bourgeonnement actif de VLP à partir des cellules productrices, mais, en l'absence de protéine N de nucléocapside et de l'ARN viral, seule l'enveloppe sera produite, et ces VLP ne seront donc pas infectieuses. La présence de la protéine spike à la surface des VLP leur permet de se lier et de pénétrer dans les cellules ACE2+ de la même manière que le ferait le virus (231).

Contrairement aux vaccins sous-unitaires, le réseau de protéines spike sur la surface des VLP réticule le récepteur des cellules B et les active directement. Comme les vaccins viraux sous-unitaires et inactivés, les VLP nécessitent généralement un adjuvant et une administration répétée (228).

La technologie VLP et la sécurité des VLP de coronavirus sont bien établies et leur production à grande échelle selon les normes de bonnes pratiques de fabrication est relativement simple. Actuellement, il n'y a qu'un seul vaccin SARS-CoV-2 à base de VLP en cours d'essai clinique et 5 en cours de développement préclinique. Ils sont produits, soit *in vivo* à partir d'un vecteur viral tel que le Modified Vaccinia Ankara (MVA), qui exprime les composants VLP (une plateforme en cours de développement par GeoVax), soit, le plus souvent, *in vitro* à partir de cellules productrices. Medicago produit notamment ses VLP SARS-CoV-2 à partir de plantes génétiquement modifiées (232).

4.3. Les nouvelles plateformes vaccinales

Dans le contexte des pathologies émergentes et/ou réémergentes, ce qui est par exemple le cas avec les virus Ebola ou Zika, il est apparu souhaitable d'avoir des plateformes qui puissent être facilement utilisées afin de pouvoir développer rapidement des vaccins capables d'induire des réponses humorale et cellulaire, et ne nécessitant pas de doses importantes de vaccins (233). Les vaccins fondés sur l'utilisation de fragments géniques codant des protéines d'intérêt, et non plus des virus entiers, ou certaines de ces protéines elles-mêmes, répondent à ces critères. On en distingue deux types : les vecteurs viraux et les vaccins nucléiques (à ADN et ARN).

Ces vaccins sont ainsi fondés sur l'utilisation des séquences d'acides nucléiques correspondant aux structures antigéniques susceptibles de déclencher une réponse immunitaire protectrice. Ils ont l'avantage 1) d'être spécifiques comme les protéines en n'utilisant uniquement la partie d'intérêt immunogénique des virus 2) de permettre toutes les modifications post-traductionnelles des protéines normalement observées *in vivo* comme avec les vaccins protéiques produits sur systèmes eucaryotes 3) d'être des potentielles plateformes universelles avec une production standardisées 4) de nécessiter *a priori* moins de vaccins, les protéines étant produites en quantité *in vivo via* la mise en fonction du système de production cellulaire.

4.3.1. Les différents vecteurs viraux utilisés pour un vaccin anti-SARS-CoV-2

Si beaucoup de microorganismes peuvent être utilisés comme vecteur d'expression génique, ce sont les virus qui ont été les plus étudiés. Ces virus sont généralement déficients et ne font qu'un cycle de réplication cellulaire, bien que des virus répliquatifs aient également été utilisés. Dans le cadre de la mise au point d'un vaccin anti-SARS-CoV-2/COVID-19, quatre plateformes virales sont plus spécifiquement utilisées (cf. tableau 12). Le mécanisme de construction de ces vaccins est relativement simple. Il consiste à utiliser un virus peu pathogène (Adénovirus) ou que l'on aura rendu non pathogènes (MVA, VSV) et d'intégrer dans son génome la séquence codant la protéine d'intérêt (protéine spike dans le cas du SARS-CoV-2). Ceci est assez simple avec les virus à ADN, plus compliqué avec les virus à ARN car nécessitant des transfections multiples de plasmides avec les virus à ARN.

Outre les avantages décrits ci-dessus, ces vaccins étant des composés de virus, ils comportent dès lors de nombreux PAMPs qui vont, comme les VVA, stimuler les TLR des cellules dendritiques (DC) et induire dès lors une réponse immunitaire optimale (cf. chapitres adjuvants). Ils comportent toutefois un certain nombre d'inconvénients potentiels 1) étant des virus, ils peuvent induire une réponse immunitaire anti-vecteur susceptible d'interférer avec leur efficacité, cette réponse pouvant préexister à la vaccination 2) il s'agit d'organismes génétiquement modifiés (OGM), ce qui peut poser des problèmes réglementaires 3) ils peuvent nécessiter des conditions optimales de conservation à très basse température (notamment pour le VSV). On dispose enfin pour certains de ces vecteurs des résultats de phase 1 avec des candidats vaccins contre le SARS-CoV-1 ou le MERS-CoV (cf. tableau 12).

4.3.1.1. Le MVA

Le MVA (Modified Ankara Virus) est une souche du virus de la variole (famille des poxvirus) comportant six délétions totalisant 24,7 Kb, ainsi que des mutations moins importantes (234). Ce virus atténué a été utilisé en Allemagne comme vaccin contre la variole, où plus de 120.000 personnes ont reçu ce vaccin sans qu'aucun effet indésirable important n'ait été rapporté (235). Ce virus a été très largement utilisé par ailleurs dans des stratégies vaccinales contre de nombreux pathogènes. Un vaccin MVA anti-Ebola a ainsi obtenu une AMM (vaccin Mvabea®) en association avec un vaccin de type Ad26 (cf. plus loin) Ebola (236). Ce type de vecteur induit des réponses immunitaires assez larges et l'existence d'une immunité préexistante contre la variole ne modifie pas son immunogénicité (237).

Tableau 13 : Caractéristiques des principales nouvelles plateformes vaccinales utilisées dans le cadre du développement d'un vaccin anti-SARS-CoV

Vaccin	Rapidité d'action Immunogénicité	Expérience avec d'autres pathogènes (Phase 2, 3 ou 4)	Essais cliniques avec candidats vaccin anti-SRAS-CoV-2	Rôle limitant de la réponse anti vecteur
MVA (VV ADN)	+	Oui : (VIH, TB, Ebola Mvabea®)	Résultats phase 1 MERS-CoV (167)	Non
VSV (VV ARN)	+++	Oui (HIV, Ebola Ervebo®)	Phase 1 (n=1)	Non
Ad5 (VV ADN)	+	Oui (VIH, Ebola)	Phase 3 (n= 2 ?, 1 seul, 1 en combinaison avec Ad26)	Oui
Ad26 (VV ADN)	+	Oui (VIH, RVS, Ebola Zabdeno®)	Phase 3 (n=1? en combinaison avec ad5 Phase 1/2 (n=1)	Oui
ChAd0X1 (VV ADN)	+	Non	Phase 3 (n=1) Results phase 1 MERS-CoV (3)	Oui
Rougeole (VV ARN)	?	Non	Phase 1 (n=1)	Non
Vaccin ADN	Faible immunogénicité	Oui (VIH, Tuberculose)	Phase 2 (n=1) Phase 1/2 (n=3) Results phase 1 MERS-CoV (166) Results phase 1 SARS-CoV (166)	NR
Vaccin ARN	Forte immunogénicité	Non	Phase 3 (n=1) Phase 2/3 (n=1) Phase 2 (n=2)	NR

NR = non renseigné

4.3.1.2. Les adénovirus

Il existe plus de 90 sérotypes d'adénovirus humains répartis en 7 espèces. Ces virus nus, dont le génome est constitué d'ADN, sont génétiquement stables, peuvent infecter les DC, sont assez faciles à modifier et ont une grande stabilité résistance aux variations thermiques.

L'adénovirus le plus étudié et utilisé comme vecteur viral a été historiquement l'adénovirus C5 (Ad5). Ce virus ayant été rendu incompetent en termes de réplication par délétion des gènes E1 qui sont nécessaires à l'établissement de l'infection et à l'activation de l'expression des autres gènes, il est nécessaire d'avoir recours à des lignées cellulaires complémentaires exprimant ces gènes, tels que HEK-293 ou PER.C6.

Ce vecteur a notamment été utilisé dans les stratégies de vaccination anti-VIH (238) ou anti-virus Ebola (239).

Le principal problème avec les adénovirus est l'existence d'une immunité anti-vecteur préexistante - ou induite par la vaccination - qui est susceptible d'impacter leur utilisation à large échelle (240). Un grand nombre de sujets adultes sont ainsi porteurs d'anticorps neutralisants anti-adénovirus 5 (241). Afin de contourner ce problème, les développeurs de vaccins adénoviraux se sont intéressés à des sérotypes plus rares tel que l'Ad26 ou à des adénovirus simiens (ChAdV) comme le ChAdV3 utilisé par exemple dans le cadre d'un vaccin anti-virus Ebola (242).

Dans le contexte des vaccins anti-SARS-CoV-2, trois adénovirus sont utilisés : 1) Ad5 que nous venons de présenter (1) 2) Ad26 et 3) un adénovirus du chimpanzé ChAdOx1.

L'adénovirus 26 est développé sous la forme d'une plateforme appelée AdVac® par la firme Janssen. Il s'agit, comme l'Ad5, d'un vecteur viral rendu incompetent pour la réplication chez l'Homme grâce à la délétion des gènes E1. Le gène étranger codant l'Ag pertinent d'intérêt pour la protection vaccinale est inséré dans cette région E1. Le vaccin est ensuite produit sur la lignée cellulaire PER.C6®. Cette plateforme a été utilisée pour un vaccin anti-virus Ebola (Zabdeno®), qui a obtenu une AMM et qui est utilisé en association avec le vaccin Mvabea® (cf. ci-dessus). Elle est également utilisée en phase 2b/3 avec un vaccin anti-VIH et un vaccin anti-VRS, et en phase 1 avec un vaccin contre le paludisme à *P. falciparum* et contre le virus Zika. Les vaccins fondés sur la plateforme Ad26 ont été administrés à plus de > 8000 participants dans les essais cliniques y comprenant des sujets âgés ≥65 ans. Dès lors, le profil de sécurité est déjà assez bien connu et cette plateforme, de même que la plateforme MVA et VSV (cf. plus loin), sont considérées par l'OMS comme des plateformes ayant un bon profil de sécurité (243). L'efficacité présumée du vecteur Ad26 conduit à l'utiliser sous la forme d'une seule dose vaccinale (70) contrairement à l'Ad5 qui en requiert *a priori* deux pour avoir une efficacité optimale. A noter enfin que le ministère russe de la santé développe une stratégie vaccinale associant les deux types de vecteurs de manière séquentielle (10). Le dernier vecteur adénoviral actuellement en phase 3 dans le cadre d'une stratégie anti-SARS-CoV-2 est un adénovirus de chimpanzé, le ChAdOx1. Il s'agit d'un sérotype Y25 qui a été délété dans les gènes E1 et E3 (244). Ce virus étant d'origine simienne, la séroprévalence des anticorps contre de ce virus est extrêmement faible chez l'Homme (244). Cependant, on dispose de beaucoup moins de données cliniques chez l'Homme puisque, en dehors des résultats des phase 1 et 2 avec un vaccin anti-SARS-CoV-2, seuls sont disponibles les résultats d'un essai de phase 1 mené avec un vaccin anti-MERS-CoV (3).

4.3.1.3. Le VSV

Le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV) est un virus à ARN de la famille des *Rhabdoviridae*. Ces hôtes naturels sont le bétail et les insectes chez lesquels il induit des pathologies neurologiques, cette neurotoxicité étant liée à ses protéines d'enveloppe (245). En conséquence, dans les constructions

vaccinales, les gènes d'intérêt remplacent le gène codant les protéines d'enveloppe du VSV. Le fait que l'Homme ne soit pas un hôte naturel évite la problématique d'une immunité humorale anti-vecteur. Ce vecteur a été utilisé avec succès pour la mise au point d'un vaccin anti-virus Ebola, Ervebo®, largement utilisé dans les dernières poussées épidémiques survenues en Afrique (246). Les vaccins faisant appel à ce vecteur ne nécessitent qu'une seule injection.

Par ailleurs, il semble efficace lorsqu'il est utilisé en post-exposition, possiblement par une action non spécifique sur l'immunité innée (247). Un de ses principaux inconvénients est sa thermosensibilité. Il doit être ainsi conservé à -70°C et n'est stable qu'une semaine à +4°C et que 24h à 25°C.

4.3.1.4. Le vaccin rougeoleux (VR)

Les principaux intérêts d'utiliser le vaccin contre le virus de la rougeole comme plateforme vaccinale sont 1) son profil de sécurité parfaitement connu et très rassurant 2) l'absence d'impact sur la réponse immunitaire contre l'antigène vaccinal de l'immunité contre le vecteur (248). Pour générer un VR recombinant, c'est la souche de laboratoire Edmonston B qui a été choisie (249) par l'équipe du Paul Ehrlich Institute, alors qu'à l'Institut Pasteur de Paris, la souche vaccinale Schwartz est utilisée (250). Comme signalé plus haut, la construction d'un vaccin recombinant avec ce virus, dont le génome est constitué d'ARN, est plus complexe qu'avec les adénovirus. En effet, la génération de ceux-ci à partir de plasmides nécessite non seulement l'ARN viral, mais également tous les composants protéiques de la ribonucléoprotéine virale qui doivent être présents simultanément dans une seule cellule. Ce vecteur a été utilisé dans le cadre du développement d'un très grand nombre de stratégies vaccinales (VIH, virus Zika, virus Epstein-Barr, grippe,...) et est susceptible d'induire des réponses anticorps ou lymphocytaires T en fonction des antigènes choisis (249). Cependant, il n'a pour l'instant pas dépassé le stade de phase 1 chez l'Homme (cf. tableau 12).

4.3.2. Les vaccins ADN et ARN

Tout comme les vecteurs viraux, les vaccins ADN et ARN vont permettre la production d'antigènes à l'intérieur des cellules et donc fournir des protéines ayant toutes les modifications post-traductionnelles requises. Par ailleurs, s'agissant aussi d'une plateforme générique, les vaccins peuvent être produits à l'aide des mêmes composants de base. La fabrication de plusieurs vaccins peut avoir lieu dans une même structure, réduisant de manière drastique à la fois les coûts et le temps de production. Leur fabrication reposant sur des procédés de nature chimique et pas biologique comme les vecteurs décrits précédemment, leur production à large échelle s'en trouve grandement facilitée.

Les premiers vaccins ADN ont été mis au point il y a une trentaine d'années (251). Pour produire ces vaccins on utilise un plasmide bactérien au sein duquel on insère une cassette d'expression eucaryote codant l'antigène vaccinal qui comporte un promoteur CMV et un signal de polyadénylation en 3'-codant l'antigène vaccinal. Les plasmides sont ensuite amplifiés dans des *E. coli* et contiennent donc les éléments favorisant leur production dans cette bactérie. Les vaccins ADN ont l'avantage d'être assez simples à produire, d'induire une réponse humorale et cellulaire et d'être très stables. Ils sont malheureusement assez peu immunogéniques, nécessitant d'utiliser plusieurs doses en primo vaccination. Afin d'améliorer cette immunogénicité, certaines équipes ont utilisé des techniques comme l'électroporation, technique qui augmenterait le risque d'intégration de l'ADN vaccinal dans le génome de l'hôte (252).

Ces vaccins, contrairement aux vecteurs viraux ou aux vaccins ARN, mettent assez peu en action les TLR de la cellule et il paraît dès lors nécessaire de les adjuvanter. Les vaccins ADN peuvent être fabriqués à faible coût et sont très stables, ce qui représentent des atouts non négligeables. Depuis 30 ans, ils ont été largement développés dans des stratégies vaccinales anti-infectieuses ou anti-

tumorales dans des essais de phase 2, voire de phase 3, notamment en association avec d'autres candidats vaccins. S'il n'existe pas de vaccin humain ayant une AMM, des vaccins vétérinaires faisant appel à cette technologie sont disponibles (West Nile Innovator® (WNV) – Apex IHN® Infectious hematopoietic necrosis virus).

Les vaccins ARN sont sans doute les moins avancés en termes d'ancienneté de développement, mais ils auraient un profil de sécurité *a priori* optimal et sont, par essence, particulièrement inducteurs de signaux de danger au sein de la cellule hôte. En effet, au cours de son auto-amplification intracellulaire, l'ARNm imitera une infection virale et potentialisera ainsi la réponse immunitaire contre l'antigène viral exprimé (253). Contrairement à un vaccin à ADN, un vaccin à ARN (ARN messager comportant une cape en 5' et une queue de polyA en 3') est directement traduit dans le cytoplasme de la cellule, sans qu'il soit nécessaire d'être transporté dans le noyau pour la transcription (254). Le vaccin ARN induit une stimulation immunitaire en activant les récepteurs de reconnaissance de formes, dont le rôle naturel est d'identifier et répondre aux ARN viraux en induisant différentes voies : dans les cellules immunitaires, les récepteurs de type Toll TLR3 (qui reconnaît les ARN double-brin), TLR7 et TLR8 (qui reconnaissent les ARN simple brin), résidant dans le compartiment endosomal, sont activés par l'ARNm endocytosé et induisent la sécrétion d'interféron (255). En revanche, comme les vaccins à ADN, la synthèse intracellulaire *de novo* de l'antigène d'intérêt d'un vaccin à ARN stimule à la fois les réponses des lymphocytes B et T. Contrairement à l'immunisation protéique, plusieurs configurations de vaccins ARN ont induit de fortes réponses des lymphocytes T CD8 +, probablement en raison de la présentation efficace des antigènes produits de manière endogène sur les molécules du CMH de classe I, en plus de puissantes réponses des lymphocytes T CD4 + (256-258). De plus, contrairement à l'immunisation par de l'ADN, les vaccins ARN ont montré la capacité de générer des réponses en anticorps neutralisants puissantes chez les animaux, avec seulement une ou deux immunisations à faible dose (259-261).

Par ailleurs, les vaccins à ARNm, reconnus comme des éléments étrangers par la cellule (PRR), ont des propriétés auto-adjuvantes qui entraînent des réponses immunitaires adaptatives fortes et à durée prolongée, *via* le TNF- α , l'IFN- α et la sécrétion d'autres cytokines par les cellules immunitaires (262) (Il est cependant possible de les adjuvanter, afin de moduler la réponse immune (253).

Alors que les risques d'intégration au génome cellulaire, d'expression à long terme et / ou d'induction d'auto-anticorps ont entravé l'approbation de vaccins à base d'ADN à usage humain, que l'utilisation de vecteurs viraux est entravée par leur potentiel retour à la pathogénicité et la présence de fortes réactions immunitaires humorales spécifiques au vecteur, pour les vaccins à ARN, ces préoccupations ne se posent pas (253). En effet, comme l'ARNm est une plateforme non infectieuse et dénuée de capacité d'intégration (cf. plus haut), il n'y a aucun risque potentiel d'infection ou de mutagenèse insertionnelle. Par ailleurs, l'ARNm est dégradé par des processus cellulaires normaux, et sa demi-vie *in vivo* peut être régulée par l'utilisation de diverses modifications de l'ARN et méthodes de délivrance (263, 264). L'expression transitoire de l'antigène codé par l'ARNm permet une exposition à l'antigène plus contrôlée et minimise le risque d'induction de tolérance qui peut être associé à une exposition à long terme aux antigènes (253). De plus, l'immunogénicité inhérente à l'ARNm peut être également modulée à la baisse pour renforcer le profil d'innocuité (265, 266).

Cependant, du fait de l'absence de commercialisation, à ce jour, de vaccins utilisant ce type de plateforme chez l'Homme, les données sur leur profil de sécurité sont encore limitées, en particulier sur le long terme. Il existe deux types de vaccin ARN en cours de développement 1) des petites molécules d'ARNm non amplificatrices qui codent l'antigène d'intérêt 2) de plus grandes molécules d'ARNm auto-amplificatrices qui codent, en plus de l'antigène d'intérêt, un réplicon viral d'alphavirus et qui dirige sa propre réplication dans la cellule hôte exprimant ainsi plus d'antigènes. Comme pour

les vaccins ADN la séquence codant les protéines d'intérêt est incluse dans ces molécules d'ARNm, permettant leur expression dans la cellule dendritique grâce à la machinerie cellulaire. La destruction des ARN par les RNases extracellulaires, a été un frein à leur développement (255). Aussi, une plus grande attention doit être accordée à leur formulation (267, 268). Dans ce but, différents systèmes de vectorisation (nanoparticules lipidiques) ont été développés, permettant aux vaccins de pénétrer dans la DC et d'y produire dès lors les antigènes vaccinaux sans être détruits auparavant par ces enzymes. L'impossibilité d'envisager leur production à grande échelle a été considérée initialement comme un obstacle insurmontable à leur commercialisation. Si cette perspective a changé, la facilité et l'évolutivité de leur production étant maintenant considérées comme leurs grands atouts, les systèmes de purification et de stabilisation restent toutefois à améliorer.

Les vaccins à ARNm ont induit une immunité protectrice contre une variété d'agents infectieux dans des modèles animaux (269), notamment avec les virus Zika (259, 261), virus de la grippe (260), virus de la rage (256), virus Ebola (270). Cependant, d'autres résultats plus modestes ont été publiés dans la grippe (260) et la rage (271). Dans le cadre du développement des vaccins anti-SARS-CoV-2, des résultats encourageants issus des essais de phase 1 ont été publiés et devront être confirmés par ceux obtenus lors des essais de phase 3⁶, menés notamment à plus grande échelle et sur du plus long terme (5-7).

⁶ pour deux candidats vaccins, de type ARN, développés par Pfizer® et Moderna®, les premières données d'efficacité vaccinale, à court terme, issus des essais de phase 3, communiquées par voie de presse mais non publiées, annoncent des taux d'efficacité de plus de 90 %.

Tableau 14 : Propriétés immunologiques des principales plateformes utilisées dans le cadre du développement des vaccins contre le SARS-CoV-2 (d'après Jeyanathan et al. (272) et Funk et al. (273))

Plateformes vaccinales	SARS-CoV-2 antigène	Réponse Ac neutralisants	Réponse cellulaire T			Immunité pré-existante contre le vecteur	Voie d'administration	Immunogénicité globale	Autres
			T CD4+	T CD8+	Trm Pulmonaires				
Vaccins par vecteur viral									
Ad5 (non répliquatif)		Qualité et Durabilité affectée par une immunité préexistante contre le vecteur	Th1	Réponse puissante ; effets négatifs d'une immunité anti-vectorielle préexistante	Induite par voie muqueuse respiratoire mais pas intramusculaire	Prévalence dans le sang élevée, âge dépendante / faible prévalence dans le tractus respiratoire	Intramusculaire (dans les RCTs)	Forte après 1 seule dose mais entravée par l'immunité préexistante anti-vectorielle	Nombreuses données de tolérance ; délivrance par voie muqueuse aide à contourner l'immunité anti-vectorielle préexistante
Ad26 (non répliquatif)		Qualité et Durabilité affectée par une immunité anti-vectorielle préexistante	Th1	Réponse modérée ; effets négatifs d'une immunité anti-vectorielle préexistante	Induite par voie muqueuse respiratoire mais pas intramusculaire	Prévalence modérée	Intramusculaire (dans les RCTs)	Faible, nécessite des doses répétées ou une vaccination hétérologue boostée	Tolérance établie sur les données des vaccins VIH et virus Ebola ; délivrance par voie muqueuse aide à contourner l'immunité antivectorielle préexistante
ChAdV (non répliquatif)		Absence d'immunité anti-vectorielle préexistante	Th1	Réponse puissante	Induite par voie muqueuse respiratoire mais pas intramusculaire	Prévalence très faible	Intramusculaire (dans les RCTs)	Forte après 1 seule dose	Tolérance bien établie sur des données chez l'Homme ; Propice à une délivrance par voie muqueuse ; peut être utilisé comme vaccin

Plateformes vaccinales	SARS-CoV-2 antigène	Réponse Ac neutralisants	Réponse cellulaire T			Immunité pré-existante contre le vecteur	Voie d'administration	Immunogénicité globale	Autres
			T CD4+	T CD8+	Trm Pulmonaires				
									autonome ou en prime boost
Plateformes vaccinales	SARS-CoV-2 antigène	Réponse Ac neutralisants	Réponse cellulaire T			Immunité pré-existante contre le vecteur	Voie d'administration	Immunogénicité globale	Autres
			T CD4+	T CD8+	Trm Pulmonaires				
VSV (réplicatif)		Absence d'immunité anti-vectorielle préexistante	Th1	Réponse pas aussi importante qu'avec Ad5 ou ChAdV qd utilisé comme vaccin autonome ; Fort booster de la réponse cellulaire	Non induite par voie intramusculaire	Absence	Intramusculaire (dans le vaccin Ebola)	Bonne après 1 seule dose	Plate-forme autorisée pour le vaccin contre le virus Ebola ; protection inconnue de la voie muqueuse contre les pathogènes respiratoires
Rougeole et Grippe (réplicatif)		Qualité et durabilité dépendantes de l'existence ou non d'une immunité préexistante anti-vectorielle et de la voie d'administration du vaccin	Th1	Bonne réponse si administré par voie muqueuse respiratoire	Non induite par voie parentérale	Prévalence élevée due à la vaccination	Parentérale ou Muqueuse respiratoire	Faible lié aux vecteurs d'adénovirus	Pas beaucoup étudié chez l'Humain ; recombinaison possible des VVA contre la grippe dans le poumon délivrés par voie muqueuse
Autres Vaccins									

Plateformes vaccinales	SARS-CoV-2 antigène	Réponse Ac neutralisants	Réponse cellulaire T			Immunité pré-existante contre le vecteur	Voie d'administration	Immunogénicité globale	Autres
			T CD4+	T CD8+	Trm Pulmonaires				
Vaccins à ARNm		Absence d'immunité anti-vectorielle préexistante	Th1 ou Th2 selon l'adjuvant	Dépendant de l'adjuvant et de la formulation	Non induite par voie parentérale	Absence	Intramusculaire (dans les RCTs)	Nécessite des administrations répétées	Adjuvant non nécessaire ; absence de certitude s'il se prête à la vaccination muqueuse Production rapide
Vaccins à ADN		Absence d'immunité anti-vectorielle préexistante	Th1	Réponse pas aussi forte que pour certains vecteurs viraux	Non induite	Absence	Intramusculaire (dans les RCTs)	Inférieure à celle des vaccins ARNm ; Nécessite des administrations répétées	Adjuvant nécessaire ; ne s'administre pas par voie muqueuse Peut être utilisé chez les sujets immunodéprimés Rapidité de production Stabilité à long terme
VVA		Forte induction	Th1	Réponse forte	Induite par voie muqueuse respiratoire mais pas par voie intramusculaire	Absence	Sous-cutanée	Nécessite une seule administration	Données de sécurité plus larges requises pour explorer une éventuelle recombinaison avec un virus de type sauvage
VI		Forte induction	Th1 ou Th2 selon l'adjuvant	Réponse faible	Absence d'induction	Absence	Intramusculaire	Faible, Nécessite des doses répétées	Adjuvant nécessaire ; aluminium souvent utilisé, qui augmente la réponse Th2 potentiellement lié

Plateformes vaccinales	SARS-CoV-2 antigène	Réponse Ac neutralisants	Réponse cellulaire T			Immunité pré-existante contre le vecteur	Voie d'administration	Immunogénicité globale	Autres
			T CD4+	T CD8+	Trm Pulmonaires				
									au phénomène d'ADE
Vaccin Protéiques Sous-unitaires		Forte induction	Th1 ou Th2 selon l'adjuvant	Réponse faible	Absence d'induction	Absence	Intramusculaire (dans les RCTs)	Faible, Nécessite des doses répétées	Adjuvant nécessaire ; le plus souvent non administrable par voie muqueuse respiratoire
Vaccins à Particules pseuvirales « virus-like particle »		Forte induction	Th1 ou Th2 selon l'adjuvant	Réponse faible	Absence d'induction	Absence	Intramusculaire ou sous-cutanée	Faible mais > à celle des vaccins protéiques sous-unitaires, Nécessite des doses répétées	Plateforme bien établie pour différents vaccins commercialités (HBV, HPV) ; adjuvant nécessaire

Conclusion

Dans le cadre du développement d'un vaccin contre le SARS-CoV-2 de très nombreuses plateformes sont utilisées. Les vaccins les plus avancés dans leur développement visent tous à induire des anticorps neutralisants contre la protéine spike entière et/ou sa partie RBD.

Parmi les plateformes utilisées on retrouve des plateformes classiques (vaccins inactivés, vaccins protéiques seuls ou sous forme de VLP) et des plateformes plus modernes (vaccin ARN, vaccin ADN, vecteurs viraux (Adénovirus : Ad5, Ad26 et ChAdOX1 ; MVA, Virus rougeoleux et VSV).

Parmi les plateformes les plus récentes seules les vecteurs viraux de type Ad26, MVA et VSV ont donné naissance à des vaccins ayant obtenu une AMM (dans tous les cas il s'agissait de vaccin anti-virus-Ebola).

On dispose par ailleurs de résultats de phase 1 chez l'Homme avec des vaccins anti MERS-CoV ou SARS-CoV1 avec des vaccins viraux inactivés, un vecteur viral de type MVA, un vecteur viral ChAdOX1 et des vaccins ADN.

Les différences entre ces différents vaccins portent :

1. Sur leur tolérance : plusieurs plateformes sont assez nouvelles et dès lors les données de tolérance chez l'Homme restent assez sommaires notamment pour les vecteurs viraux même si certains d'entre eux ont déjà été largement utilisés comme le MVA par exemple. Il ne faut pas oublier que les vaccins protéiques vont être associés à de nouveaux adjuvants (cf. chapitre suivant) pour lesquels on dispose de peu de données chez l'Homme ;
2. Sur leur immunogénicité : les vaccins les plus immunogéniques sont a priori les vecteurs viraux et les vaccins ARN car ils ont un effet de stimulation des TLR des cellules dendritiques. Ces vaccins ainsi que les vaccins ADN, et contrairement aux vaccins inactivés et aux vaccins protéiques induisent une réponse lymphocytaire T CD8+ possiblement bénéfique pour contrôler la réplication du virus ;
3. Sur leur conservation : certains vaccins sont assez sensibles à la chaleur rendant problématique leur utilisation à large échelle dans les pays chauds.

En l'absence de tests immunologiques standardisés internationalement, de critères d'efficacité harmonisés entre les différents essais de phase 3, il ne sera pas possible de comparer l'efficacité de ces différents vaccins dans un avenir proche.

Pour intéressants qu'ils soient, les premiers vaccins ne seront peut-être pas les plus efficaces. Plusieurs équipes travaillent sur la conception de vaccins intégrant des antigènes plus divers afin notamment d'élargir la réponse lymphocytaire et (ou) du (des) vaccins à délivrance muqueuse qui pourrai(en)t s'avérer à terme plus pertinent(s) pour contrôler précocement l'infection virale.

Ainsi, il est très vraisemblable que plusieurs vaccins anti-SARS-CoV-2 seront produits avec succès, selon plusieurs vagues successives et que les rappels vaccinaux pourraient faire appel à des vaccins de différentes générations.

5. Immunité et vaccins muqueux

L'immunité muqueuse joue un rôle fondamental dans le contrôle des infections. Le rôle de cette immunité est toutefois prioritairement un rôle tolérogène vis-à-vis des antigènes alimentaires. A de rares exceptions près, les candidats vaccins contre le SARS-CoV-2 sont tous administrés par voie intramusculaire (IM). L'avantage de cette voie tient à un contrôle de la dose injectée. Cependant, cette voie induit une réponse systémique, la protection au niveau des muqueuses étant assurée par un transfert passif des IgG post-vaccinales. Ces vaccins ne peuvent induire efficacement des anticorps IgA muqueux ou des lymphocytes T de type TRM (T Resident Memory) dans les VARS (274, 275), première ligne de défense contre les pathogènes respiratoires, et qui sont les plus susceptibles d'entraîner une neutralisation virale (212, (276, 277). Cet effet essentiellement systémique des vaccins administrés par voie IM pourrait expliquer, par exemple, les différences d'efficacité des vaccins anti-SARS-CoV-2 actuellement en phase 2/3 utilisant cette voie d'administration dans le modèle rhesus macaque dans les compartiments des VARS et pulmonaire (cf. tableau).

Le système respiratoire se divise en une partie supérieure (des cavités nasale et buccale à la gorge) et une partie inférieure (trachée et poumon) séparées par la glotte. Si la partie supérieure est en contact avec de nombreux germes de l'environnement, les voies respiratoires inférieures sont d'ordinaire stériles. Le système immunitaire muqueux des VARS est constitué de sites inductibles - le tissu lymphoïde associé au nasopharynx (NALT)- et effecteurs. Les antigènes capturés par les DC sont apportés au NALT faisant office localement de ganglion et dans la région B de ces structures, les lymphocytes B vont maturer et donner naissance à des plasmocytes qui produiront essentiellement des IgA sécrétoires (S-IgA), celles-ci ayant une forte activité neutralisante (215). Il existe un système identique au niveau des bronches appelé BALT mais celui-ci n'existe pas à l'état basal chez l'Homme et n'est induit qu'après infection (278). Ce tissu inductible est capable à lui seul de contrôler une infection virale pulmonaire (279).

Le rôle de l'immunité innée dans la mise en place de système adaptatif semble prépondérant (94). Le système immunitaire des voies respiratoires supérieures et inférieures présente également des différences marquées en ce qui concerne la dominance des isotypes d'Ig et de l'induction de l'immunité humorale. Si, dans les voies respiratoires supérieures, l'induction de réponses IgA est dominante, les voies respiratoires inférieures sont le domaine des IgG d'origine circulatoire celles-ci étant dépourvues de muqueuse (218). Dans les expériences de challenge viral avec des souches de HCoV-229E l'excrétion virale au niveau des VARS est ainsi inversement corrélée à la quantité d'IgA muqueuses présente au niveau des sécrétions nasales (117). La réponse IgA muqueuse reste peu étudiée au cours de l'infection SARS-CoV-2 toutefois elle semble être présente chez les sujets infectés et ce même en l'absence de réponse systémique (194).

A côté de l'immunité humorale, l'immunité cellulaire joue un rôle important dans la protection et la défense contre les infections au niveau muqueux et, en premier lieu, les lymphocytes TRM (T Resident Memory). Ces lymphocytes T se différencient de leur contrepartie sanguine par l'expression de récepteurs de surface, en particulier le CD69 pour les lymphocytes T CD4+ et le CD103 pour les lymphocytes T CD8+ (280). Les études menées chez la souris suggèrent que le poumon est une niche distincte et très dynamique pour la génération de TRM (280).

Différentes plateformes vaccinales peuvent être utilisées dans le cadre du développement d'un vaccin administré par voie muqueuse. Le type de plateforme mais également le type d'adjuvant utilisé sont déterminants pour la mise au point des stratégies de vaccination muqueuse (281). Cette voie a été largement utilisée avec le vaccin anti-poliomyélitique oral vivant atténué, mais seuls quelques vaccins administrables par voie muqueuse ont été développés par la suite (vaccins contre la grippe et rotavirus

notamment) (221). Cela est dû en particulier à la difficulté de disposer d'adjuvants muqueux sûrs et efficaces (220), ainsi qu'au manque de systèmes d'administration capables de préserver l'intégrité de l'antigène du vaccin.

Il est important de noter qu'il n'existe de vaccin muqueux disponibles que contre cinq pathogènes, trois virus (virus de la grippe, rotavirus, virus de la poliomyélite) et deux bactéries (*Salmonella Typhi* et *Vibrio Cholerae*). Parmi ceux-ci, un seul ne repose pas sur l'utilisation d'un agent infectieux atténué (Dukoral®, qui est un vaccin inactivé), et un seul est disponible par voie non digestive (le vaccin anti-grippal).

Les problématiques principales auxquelles est confronté le développement d'un vaccin par voie muqueuse sont liées aux phénomènes d'immunotolérance (282). Les surfaces muqueuses sont exposées continuellement à des antigènes, ce qui entraîne le développement d'un micro-environnement tolérant envers les antigènes (283). Ce phénomène est dépendant de la formulation du vaccin, de la dose antigénique (283), de la fréquence d'administration (l'administration d'un antigène à doses faibles et pendant longtemps, tout comme l'administration de fortes doses mais peu souvent répétées entraîne une immunotolérance) et du type d'adjuvant utilisé quand le vaccin n'est pas un vaccin vivant atténué (281).

L'induction de réponses immunitaires spécifiques au niveau des sites muqueux peut être en mesure de contrôler les infections dès leur point d'entrée dans le corps (281). Au cours des dernières décennies, plusieurs vaccins candidats ont été conçus et testés par diverses voies muqueuses dans des essais précliniques ou cliniques. Bien que le système immunitaire muqueux comporte plusieurs compartiments anatomiquement éloignés et fonctionnellement distincts, il est établi que l'ingestion orale ou l'administration intranasale d'antigènes induit des réponses humorales et cellulaires, non seulement au site d'exposition à l'antigène mais également dans d'autres compartiments muqueux (284, 285).

Cependant, toutes les routes d'administration muqueuses n'induisent pas une réponse immune équivalente en termes d'amplitude et de durée, reflétant les différences dans l'organisation et la composition cellulaire des structures lymphoïdes dans les différents tissus muqueux (286, 287) : la vaccination orale stimule généralement les réponses immunitaires dans le tractus digestif, ainsi que de la muqueuse buccale, les tissus lymphoïdes nasaux associés (NALT) et les glandes mammaires. L'administration intranasale, quant à elle, induit efficacement la production d'anticorps dans les glandes salivaires, le NALT et le tissu lymphoïde associé aux bronches (BALT) des voies respiratoires inférieures et du tractus urogénital (288).

L'immunisation par voie muqueuse est donc considérée comme l'approche la plus simple et appropriée pour induire de puissantes réponses immunitaires et systémiques contre les infections respiratoires (289-292).

Plusieurs candidats vaccins ont été développés contre des coronavirus animaux (293-295), ou contre le MERS-CoV (296, 297) ou le SARS-CoV-1 (298). Ces études montrent l'induction d'une réponse muqueuse et une protection contre l'infection, quand elle a été analysée, permettant de démontrer la pertinence éventuelle des stratégies de vaccinations muqueuses dans les infections par les coronavirus.

Rares sont toutefois les candidats vaccins en cours de développement clinique contre le SARS-CoV-2 administrés par voie muqueuse : selon la liste des candidats vaccins établie par l'OMS, deux vaccins par vecteur viral non réplicatif (Ad5), administrés en 2 doses à 28 jours d'intervalle, sont en cours d'étude dans des essais de phase 1, l'un en Chine (vaccin de l'Institute of Biotechnologyn Academy of Military Medical Sciences, PLA of China) et le second aux USA (vaccin de la compagnie Vaxart), essais

qui doivent officiellement se terminer en juin et octobre 2021. A ce jour, aucun résultat n'a été publié pour ces candidats vaccins.

En phase préclinique, l'un des trois vaccins développés par l'Institut Pasteur (241), un vaccin utilisant un vecteur lentiviral (LV), a induit la production d'anticorps neutralisants contre la glycoprotéine spike du SARS-CoV-2. La vaccination systémique par ce vaccin chez la souris, dans laquelle l'expression du récepteur SARS-CoV-2 hACE2 a été induite par transduction de cellules des voies respiratoires par un vecteur adénoviral, n'a conféré qu'une protection partielle, malgré une intense activité de neutralisation du sérum. Cependant, le ciblage de la réponse immunitaire aux voies respiratoires, par un rappel intranasal, avec ce vaccin a entraîné une diminution supérieure à 3 log₁₀ de la charge virale pulmonaire et évité une inflammation locale. Chez le hamster doré, naturellement permissif à la multiplication du SARS-CoV-2 et restituant la physiopathologie humaine du COVID-19, ce vaccin a montré une forte efficacité vaccinale et diminué les lésions pulmonaires délétères.

Un autre essai a été mené avec un candidat vaccin à vecteur adénovirus de chimpanzé codant une protéine spike stabilisée par préfusion (ChAd-SARS-CoV-2-S) dans des études de challenge viral (299) avec le SARS-CoV-2 chez des souris exprimant le récepteur ACE2 humain. L'administration intramusculaire de ce vaccin a induit des réponses immunitaires humorales et cellulaires systémiques robustes et a protégé contre l'infection pulmonaire, l'inflammation et la pathologie, mais n'a pas conféré d'immunité contre la contamination et l'infection, comme en témoignent la détection de l'ARN viral et l'induction d'anticorps anti-nucléoprotéines (non contenues dans le vaccin) après une infection par le SARS-CoV-2. En revanche, une seule dose intranasale a induit des niveaux élevés d'anticorps neutralisants, a favorisé les réponses systémiques et muqueuses des immunoglobulines A (IgA) et des lymphocytes T, et a prévenu, après challenge, l'infection par le SARS-CoV-2 (absence de lésion pulmonaire à l'histologie).

Conclusion

L'immunité muqueuse est un élément déterminant dans le contrôle des viroses respiratoires et notamment les infections à coronavirus. Cette immunité est bien moins étudiée que l'immunité systémique mais semble associée au contrôle de la réplication du virus au niveau des VARS en tout cas dans les études de challenge de volontaires sains avec le HCoV-229E.

Dès lors le développement d'un vaccin administrable par voie muqueuse est une piste intéressante car il permettrait une protection plus rapide et plus complète (notamment en assurant un contrôle de la réplication du virus au niveau des VARS permettant d'envisager d'obtenir un vaccin à même d'induire une immunité collective) en cas d'infection par le SARS-CoV-2.

L'utilisation de la voie muqueuse, non douloureuse, facilite son administration et pourrait améliorer l'acceptabilité vaccinale.

Si le développement de vaccin par voie muqueuse est plus compliqué que celui de ceux administrés par voie systémique car des phénomènes d'immunotolérance peuvent compromettre son immunogénicité et il est important de rappeler qu'à ce jour un seul vaccin est disponible par voie nasale, mais que plusieurs candidats vaccins anti SARS-CoV-2 sont actuellement en cours d'évaluation.

6. L'impact potentiel des adjuvants

6.1. Définition

Un antigène peut s'avérer à lui seul ne pas être un agent suffisamment stimulant dans le processus de recrutement du système immunitaire et la mise en place d'une réponse immune adaptative. L'adjonction d'un adjuvant, c'est-à-dire d'une substance qui, ajoutée à la préparation antigénique d'un vaccin, augmente la réponse immunitaire humorale et/ou cellulaire vis-à-vis de l'antigène, est alors nécessaire⁷.

Dans le contexte du développement d'un vaccin contre le SARS-CoV-2, l'enjeu est de trouver le plus rapidement possible un vaccin capable d'induire rapidement une réponse anticorps protectrice, avec une quantité minimale d'antigène, et sans effets indésirables importants ; ce qui rendrait le vaccin accessible et permettrait de répondre à la demande mondiale forte (301, 302).

Aussi, l'incorporation d'un adjuvant aux vaccins en cours de développement pourrait répondre à la plupart de ces exigences car elle permettrait non seulement d'entraîner une meilleure réponse immunitaire mais également de réduire la quantité d'antigène nécessaire et le besoin d'un schéma vaccinal en plusieurs injections (301, 302).

Depuis les années 1920 (303), des adjuvants ont ainsi été ajoutés dans les vaccins de manière empirique, avec pour objectifs,, selon Coffman *et al.* (304) :

- d'accroître l'immunogénicité des nouveaux antigènes peu immunogènes (protéines purifiées ou recombinantes, peptides, polysaccharides purifiés...)
- de moduler et orienter la réponse immunitaire (Th1, Th2, CTL, augmentation de la vitesse de la réponse initiale en cas d'épidémie ou de pandémie...)
- de maintenir la réponse immunitaire dans le temps (mémoire) ;
- de réduire la quantité d'antigène ou le nombre d'injections nécessaires pour l'immunité protectrice (aspect économique) ;
- d'améliorer la réponse immunitaire aux vaccins chez les nouveaux nés, les personnes âgées ou les immunodéprimés ;
- de développer de nouvelles voies d'immunisation (orale, nasale).

6.2. Classification selon les mécanismes d'action

Il existe différentes classifications des adjuvants, fondées notamment sur leurs propriétés physico-chimiques ou leur origine (305) mais nous ne décrivons, dans ce document, qu'une classification reposant sur leurs principaux mécanismes d'action (306).

Les adjuvants peuvent être classés en trois grandes catégories (307) :

- 1) Les immunostimulants qui agissent directement sur le système immunitaire pour améliorer la réponse à l'antigène (ligands aux TLR, cytokines, saponines et des endotoxines bactériennes qui stimulent la réponse immunitaire) ;

⁷ Selon la directive 2001/83/EC du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001 (300), « l'incorporation d'adjuvants aux formulations des vaccins a pour but d'augmenter, d'accélérer et de prolonger la réponse immunitaire spécifique recherchée aux antigènes vaccinaux ». En conséquence, ne sont pas considérés comme adjuvants, les composés administrés séparément de l'antigène ou à un site différent : il s'agit alors d'immunomodulateurs qui préconditionnent le système immunitaire de manière systémique.

- 2) Les « dépôt/carrier » qui sont des systèmes de libération (ou véhicules) présentant l'antigène vaccinal au système immunitaire de façon optimale, permettant la libération contrôlée et la formation d'un dépôt améliorant la réponse spécifique à l'antigène ;
- 3) Les immunostimulants mélangés à un système de libération (sels d'aluminium, émulsions, liposomes).

6.3. Bases immunologiques de l'action des adjuvants sur la réponse immunitaire et principaux mécanismes d'action

Malgré leur large utilisation dans des milliards de doses de vaccins humains et animaux, les mécanismes d'action par lesquels les adjuvants potentialisent les réponses immunitaires ne sont toujours pas complètement caractérisées à l'heure actuelle.

De manière générale, les macrophages et cellules présentatrices d'antigènes possèdent des récepteurs (PRR = Pathogen Recognition-Receptor) capables de détecter certaines molécules propres aux agents infectieux (PAMP= Pathogen-Associated- Molecular Pattern). L'ensemble constitue, dans les macrophages et les cellules présentatrices d'antigènes (CPA), un complexe intracellulaire, appelé l'inflammasome, permettant d'activer la production de cytokines et l'initiation des réponses immunes (300).

Contrairement aux vaccins vivants, les vaccins protéiques (par exemple anatoxines diphtérique ou tétanique, antigène HBs) sont dépourvus de PAMPs. Ceux-ci sont d'autre part en partie dénaturés lors du processus d'inactivation des vaccins inactivés. Certains adjuvants, en activant les PRR, permettent de compenser l'absence de PAMPs. L'activation des PRR déclenche une première vague d'immunité innée nécessaire à l'élaboration d'une réponse immune efficace et de longue durée, médiée par les Ac et les lymphocytes T.

Les données disponibles suggèrent que les adjuvants utilisent, selon leur nature, un ou plusieurs des mécanismes suivants pour déclencher des réponses immunitaires :

1) Libération prolongée d'antigène au site d'injection (effet de dépôt), avec augmentation de la durée de présence de l'antigène au point d'injection et stimulation répétée du système immunitaire (le mécanisme d'action certainement le plus anciennement connu)

La libération au site d'injection assure une stimulation constante du système immunitaire avec une production élevée en titres d'anticorps. Jusqu'à récemment, l'effet dépôt était considéré comme un mécanisme d'action classique de nombreux adjuvants. Les antigènes sont simplement adsorbés sur l'aluminium, la liaison serait due à une forte interaction électrostatique entre l'antigène et l'aluminium (308). Divers autres adjuvants tels que les émulsions eau-dans-huile (adjuvant complet de Freund [CFA]), les micro et nanoparticules biodégradables (309, 310), l'AS04, une combinaison adjuvante composée de monophosphoryl lipide A (MPL) et d'aluminium (311), agissent par effet de dépôt pour induire une production d'anticorps importante et prolongée.

2) Régulation positive des cytokines et des chimiokines

3) Recrutement cellulaire au site d'injection

4) Augmentation de l'absorption et de la présentation de l'antigène aux cellules présentatrices d'antigène (CPA) et limitation de la dégradation des antigènes vaccinaux avant leur captation par la CPA.

L'adjuvant permet de préserver l'intégrité conformationnelle de l'antigène, de faciliter la capture du complexe antigène-adjuvant par la CPA et influence également le ciblage de cellules spécifiques. Ceci permet de maximiser la réponse en anticorps efficaces (avec diminution des quantités d'antigène dans

les vaccins et du nombre de doses nécessaires pour obtenir une protection efficace), et de maintenir l'affinité de l'anticorps et augmenter la durée de la réponse immunitaire.

5) Présentation de l'antigène aux CPA

L'adjuvant peut également permettre de préserver la conformation de l'antigène et de faciliter la capture du complexe antigène-adjuvant par la CPA, ce qui permet de maximiser la réponse en anticorps neutralisants (avec diminution possible des quantités d'antigènes et du nombre de doses nécessaires) et augmenter la durée de la réponse immunitaire.

6) Activation et maturation des CPA, avec augmentation de l'expression du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II et des molécules co-stimulatrices et migration aux ganglions lymphatiques drainants ;

7) Potentialisation ou modulation immunologique (voies Th1, Th2 et Th17)

L'activité de l'adjuvant est liée à l'activation de la cellule dendritique (CD), par ses TLRs, qui permet la capture et la reconnaissance de l'antigène. La CD mature va alors présenter l'antigène aux LT naïfs (avec déclenchement de l'immunité adaptative). L'activité immunologique de l'adjuvant est liée à l'activation de la CD, CPA par excellence qui permet le passage de l'immunité innée (immunité naturelle) à l'immunité adaptative (immunité acquise). Dans les tissus périphériques, la CD, activée par ses TLRs, assure la capture et la reconnaissance de l'antigène, ce qui déclenche sa maturation pendant sa migration subséquente vers le paracortex du ganglion ; la CD mature va apprêter l'antigène puis le présenter au LT naïf, déclenchant ainsi les processus de l'immunité adaptative.

L'adjuvant protège l'antigène de la protéolyse extra-cellulaire et facilite la présentation de l'antigène dans le cytosol. Ainsi, l'antigène se fixe sur les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I (CMH I), ce qui conduit à l'activation de lymphocytes T CD8+. Il peut être intéressant d'ajouter un immunomodulateur favorisant la production d'IFN- γ qui active également la voie endogène par la stimulation de l'expression du CMH I.

Selon l'adjuvant choisi pour la formulation du vaccin, la réponse immunitaire pourra être orientée vers une réponse adaptative de type Th1 de type cellulaire ou Th2 de type humoral ; la production de LT à mémoire et la vitesse de la réponse initiale (importante au cours d'une pandémie) pourront être augmentées, l'étendue, la spécificité ou l'affinité de la réponse pourront être modifiées. En effet, tous les adjuvants ne vont pas agir de la même façon sur le système immunitaire et peuvent moduler le type de réponse immunitaire obtenue. Ainsi certains vont orienter vers la production de certaines cytokines : l'interleukine IL-4 entraînant la stimulation des LT de type Th2, ce qui va préférentiellement induire une réponse immunitaire humorale, ou inversement l'IFN- γ (IFN- γ) stimulant les LT de type Th1 et provoquer une réponse immunitaire cellulaire, alors que certains, en activant la production d'IL-17 favorisent les LT de type Th17 et activent l'immunité locale médiée par les polynucléaires.

A ce jour, les adjuvants utilisés sont associés à des vaccins protéiques qui requièrent l'induction de fortes réponses humorales. A l'inverse, certains adjuvants associés à des vaccins nouveaux, ou en cours de développement sont choisis pour stimuler également la réponse cellulaire cytotoxique et ainsi optimiser l'ensemble des défenses protectrices.

6.4. Les adjuvants utilisés dans les vaccins actuels

La plupart des vaccins actuellement sur le marché contiennent des adjuvants, sauf l'ensemble des vaccins vivants, les vaccins contre la grippe saisonnière (excepté Gripgard®), les vaccins quadrivalents méningococciques conjugués A,C,Y,W135, le vaccin Pneumo23® et le vaccin DTP® (mais qui n'est plus disponible).

Néanmoins, peu d'adjuvants sont homologués pour les vaccins humains, plusieurs formulations sont toutefois en cours d'évaluation dans des essais cliniques.

A ce jour, sept adjuvants ont été utilisés dans des vaccins humains ayant reçu une autorisation de mise sur le marché : Aluminium, MF59, AS03, AS04, AF03, des virosomes et une entérotoxine thermolabile.

Comme le SARS-CoV-2 est génétiquement proche du SARS-CoV-1 (79,6%) et, dans une moindre mesure, du MERS-CoV, et utilise de façon similaire la protéine spike pour la liaison au récepteur, les résultats des essais antérieurs, réalisés pour les vaccins développés dans le cadre des autres coronavirus pathogènes pour l'Homme, peuvent représenter un intérêt important et accélérer le développement des vaccins contre le SARS-CoV-2.

Les adjuvants, ayant déjà été utilisés lors du développement des vaccins contre les autres coronavirus pathogènes chez l'Homme sont l'aluminium, le MF59, le Montanide ISA51/CpG, le Matrix-M™, le Q21, l'AS01/AS03n, le Delta inulin (Advax™)+CpG, les ligands TLR, le rOv-ASP-1 et la Protolline (312).

Or, parmi les candidats vaccins contre l'infection par le SARS-CoV-2 actuellement en développement, ceux qui nécessitent l'utilisation d'adjuvant sont les vaccins inactivés, les vaccins protéiques et les vaccins ADN. Les vecteurs viraux qui sont proches des vaccins vivants atténués et portent à leur surface de nombreux PAMPs, et les vaccins ARN qui sont reconnus par les TLR intracellulaire (TLR7 et 8) ne nécessitent pas d'adjuvant (272).

Parmi les candidats vaccins contre le SARS-CoV-2 en phase clinique de développement, au moins 11 d'entre-eux comportent des adjuvants et l'information sur leur nature est donnée pour 6 vaccins : aluminium pour le vaccin inactivé de Sinovac, Matrix-M™ pour le vaccin sous-unitaire protéique de Novavax, Advax™ pour le vaccin sous-unitaire protéique de Vaxine Pty Ltd/Medytox, MF59 pour le vaccin sous-unitaire protéique de l'université de Queensland, Adjuvant de GSK (AS03) ou de Dynavax (CpG 1018) pour le vaccin VLP de Medicago et CpG 1018 pour le vaccin de Medigen Vaccin Bio. Nous détaillerons ces adjuvants dans les paragraphes ci-dessous.

Par ailleurs, parmi les candidats vaccins en phase préclinique, certains seraient adjuvantés avec, notamment, de l'aluminium et le CpG 1018 (dans le cas de vaccins inactivés) et le GLA/3M052.

6.4.1. Les adjuvants aluminiques

Les dérivés de l'aluminium (hydroxyde et phosphate d'aluminium) ont été les premiers adjuvants utilisés en vaccinologie.

Il existe différents dérivés de l'aluminium, l'adjuvant le plus couramment utilisé étant l'hydroxyde d'aluminium (cf. tableau 15). Le mécanisme de son action adjuvante est complexe (313) : il agit par formation de dépôts au site d'injection, permettant une libération lente de l'antigène et un allongement du temps d'interaction entre l'antigène et les cellules présentatrices d'antigène. Il convertit également les antigènes solubles en formes particulaires qui sont facilement phagocytées (314). Au niveau cellulaire, l'hydroxyde d'aluminium stimule directement les monocytes pour produire des cytokines pro-inflammatoires et activer les cellules T, qui activent elles-mêmes les cellules Th2 avec libération d'IL-4, induisant une augmentation de l'expression des molécules du CMH de classe II sur les monocytes (315).

A contrario, les adjuvants aluminiques ne stimulent pas l'immunité cellulaire (316). Ces adjuvants ont déjà été utilisés dans plusieurs vaccins homologués à usage humain (317, 318).

Tableau 15 : Les différents adjuvants aluminiques

Dénomination	Formule chimique	Forme
Oxyde d'aluminium, alumine	Al ₂ O ₃	Poudre cristalline
Hydroxyde d'aluminium, oxyde d'aluminium hydraté, alumine hydratée	Al(OH) ₃	Solide cristallisé (forme tri-hydratée) ou poudre amorphe
Oxyhydroxyde d'aluminium	AlO(OH)	Solide cristallisé (forme mono-hydratée) ou poudre amorphe
Phosphate d'aluminium	AlPO ₄	Poudre amorphe
Sulfate d'aluminium d'hydroxyphosphate	AlH ₂ O ₈ PS	Poudre amorphe

Source : Rapport de l'Académie nationale de pharmacie « les adjuvants aluminiques : le point en 2016 », adopté le 14 mars 2016 (319)

Même si une réponse Th2 a pu être considérée comme délétère au cours de l'infection par ce virus (cf chapitre) les études précliniques réalisées dans le cadre du développement de candidats vaccins contre le SARS-CoV-1 ont montré que les titres d'anticorps étaient plus élevés chez la souris en cas de vaccin adjuvanté avec de l'aluminium (320, 321).

Chez le primate non humain, Qin E. *et al.* (322) et Luo F. *et al.* (323) ont montré que le vaccin adjuvanté ou non, avait protégé les macaques challengés d'une infection, sans événement indésirable rapporté. De manière similaire, un vaccin inactivé contre le MERS-CoV, adjuvanté avec de l'aluminium + CpG a protégé des souris transgéniques de l'infection (158).

Concernant leur tolérance, les adjuvants aluminiques ont vu leur sécurité d'emploi remise en question à partir de 1998, en France, avec la description d'une nouvelle entité histologique « la myofasciite à macrophages », dont le lien avec l'aluminium a été établi en 2001, suite à la mise en évidence de cristaux d'hydroxyde d'aluminium dans les inclusions intra-cytoplasmiques des macrophages. Depuis, malgré de nombreuses controverses autour de son innocuité, le recul sur son utilisation et l'absence de signal de sécurité n'ont pas remis en cause sa balance bénéfice/risque en France (324, 325), comme à l'étranger (326).

Différents dérivés de l'aluminium sont employés comme adjuvants dans les vaccins commercialisés en France, les plus utilisés étant l'hydroxyde d'aluminium (avec une quantité d'aluminium allant de 0,25 à 0,6 mg par dose, selon les vaccins, lorsqu'il est utilisé seul et une dose totale n'excédant pas 0,82 mg). La quantité d'aluminium délivrée par les vaccins est inférieure à l'exposition journalière à l'aluminium par la nourriture et les médicaments : l'European Food Safety Authority (EFSA) (327) a retenu en 2008 une Dose Hebdomadaire Tolérable Provisoire (DHTP) de 1 mg/kg pc/semaine (diminution par 7 de la précédente DHTP). Le Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), en 2011, a revu à la hausse la valeur précédemment établie, en fixant la DHTP à 2 mg/kg pc/semaine (328). Cette DHTP s'applique à tous les composés d'aluminium présents dans les aliments, y compris les vaccins. La FDA (États-Unis) a fixé à moins de 0,85 mg par dose la quantité maximale d'aluminium autorisée pour les adjuvants vaccinaux.

La pharmacopée européenne a limité la concentration d'aluminium autorisée dans les allergènes et les vaccins à 1,25 mg par dose. Et la dose cumulée d'aluminium est au maximum de 3,835 mg pour l'ensemble des injections préconisées par le calendrier vaccinal (vaccin hexavalent, vaccin pneumococcique conjugué, vaccin méningococcique conjugué C) chez les enfants entre 0 et 24 mois.

Par ailleurs, il est recommandé d'administrer ces vaccins par voie intramusculaire profonde (au niveau de la région deltoïdienne, à la pointe supéro-externe du bras ou, chez le nourrisson, au niveau de la région antéro-externe de la cuisse), induisant une réponse immunitaire et une tolérance locale de meilleure qualité par rapport à une injection sous-cutanée.

6.4.2. Les adjuvants non-aluminiques

A côté de l'aluminium et ses dérivés, le développement d'autres adjuvants est en pleine croissance, facilité par une approche multidisciplinaire intégrative et le développement de techniques permettant des modifications de leur structure (pour réduire leur toxicité, les simplifier afin d'en potentialiser les effets ou encore améliorer leur biodisponibilité (329).

L'adjonction d'un adjuvant qui favoriserait une réponse à prédominance Th1 à un vaccin inactivé peut atténuer le problème de l'immunopathologie de type Th2 (329).

Dans les vaccins animaux, plusieurs adjuvants et systèmes de présentation d'antigène autres que l'aluminium, ont déjà été utilisés : des saponines simples, des complexes immunostimulants (ISCOM), une matrice, des huiles de montanide, des formulations de carbopol (330).

Et, actuellement, des adjuvants vaccinaux non aluminiques, dont certains ont déjà été utilisés auparavant, sont en cours de développement dans des vaccins contre le SARS-CoV-2, comme le Matrix-M™, l'Advax™, le MF59, l'AS03 (adjuvant de GSK) et le CpG 1018 (adjuvant de Dynavax).

6.4.2.1. Matrix-M™

Matrix-M™ est un adjuvant à base de saponine extraite de l'arbre *Quillaja saponaria Molina* qui induit des niveaux élevés et durables d'anticorps avec une réponse équilibrée de type Th1 et Th2 (331). Bien que son mode d'action n'ait pas été complètement élucidé, il favorise le drainage cellulaire vers les ganglions lymphatiques locaux, créant un milieu de cellules activées comprenant des lymphocytes T, des lymphocytes B, des cellules Natural Killer, des polynucléaires neutrophiles, des monocytes et des cellules dendritiques (332, 333).

Matrix-M™ a induit une réponse immunitaire renforcée dans des études précliniques et chez l'Homme (334), avec notamment le virus de la grippe aviaire H7N9 où un vaccin avec adjuvant Matrix-M™ avait un effet d'économie de dose significatif et un profil de sécurité acceptable (335). Il est actuellement en cours de développement dans le paludisme, l'infection par le Virus Respiratoire Syncytial et la grippe.

6.4.2.2. Advax™

Advax™ est un adjuvant polysaccharidique microparticulaire, dérivé de microparticules de polyfructofuranosyl-Dglucose (delta inuline). Il a été démontré qu'il améliore l'immunogénicité et l'efficacité d'une grande variété de vaccins, contre le virus de la grippe, l'HBV, l'encéphalite japonaise, le virus du Nil occidental, le VIH, le bacille du charbon et la *Listeria* (312).

Il a déjà été évalué dans des essais cliniques chez l'Homme, y compris des vaccins contre l'hépatite B, la grippe. Si les essais cliniques ont montré une immunogénicité supérieure et une excellente tolérance des vaccins avec l'adjuvant Advax™, son mécanisme d'action reste encore peu connu. Il activerait le système du complément et, lorsqu'il est co-administré avec un antigène, il aide à produire une réponse immunitaire solide, spécifique et constituée à la fois d'anticorps et d'immunité à médiation cellulaire (336).

Des réponses équilibrées Th1 et Th2 ont été observées lorsque cet adjuvant a été coadministré avec un virus inactivé de l'encéphalite japonaise (337) et des vaccins anti-grippaux, et a permis une

protection clinique après challenge. De même l'ajout d'une combinaison delta inuline et oligonucléotide CpG, à des vaccins anti-SRAS-CoV-1 soit de type vaccin inactivé soit de type vaccin protéique (protéine spike recombinante) a induit une augmentation des titres d'anticorps neutralisants sériques sans provoquer d'immunopathologie pulmonaire, contrairement à ce qui était observé lorsque l'alun était utilisé en lieu et place de la delta inuline (160).

6.4.2.3. MF59

Le MF59 est un adjuvant « huile dans eau » contenant un squalène, substance jugée comme non toxique et métabolisable, et deux surfactants (Tween 80 et Span 85). Il a été utilisé auparavant dans les vaccins contre la grippe pandémique (Focetria® et Celtura®) et saisonnière (Gripguard®) et se retrouve dans la composition du vaccin Fluad®, actuellement sur le marché.

Les particules formées sont capables de cibler spécifiquement les macrophages et les cellules dendritiques afin d'optimiser la capture de l'antigène par les CPA. Ce recrutement et cette activation des CPA vont permettre de former un foyer d'inflammation favorisant la réponse immunitaire spécifique. Par ailleurs, quelques instants après l'injection, la phase continue aqueuse se disperse dans le tissu interstitiel et les particules huileuses vont voyager grâce aux vaisseaux lymphatiques jusqu'aux ganglions lymphatiques.

Un élément clé de son mécanisme d'action semble être la création d'un environnement local transitoire « immunocompétent » au site d'injection, entraînant le recrutement de cellules immunitaires clés, capables d'absorber l'antigène et l'adjuvant et de les transporter au niveau local, dans les ganglions lymphatiques locaux, où la réponse immunitaire sera induite (338).

Ce recrutement semble être déclenché par l'induction d'un gradient entraîné par les chimiokines par l'impact du MF59 sur les cellules locales, qui sont activées pour sécréter d'autres chimiokines, facteurs de recrutement des cellules immunitaires (339).

Bien qu'il favorise, comme l'aluminium, les réponses de type Th2, le MF59 active plus fortement les lymphocytes T CD4+ et induit des titres d'anticorps plus élevés contre l'hémagglutinine du virus de la grippe (340).

Avec cet adjuvant, les réactions locales sont rares car le squalène est une substance endogène (précurseur du cholestérol) et les copolymères (POE et POP) sont peu inflammatoires. En outre, étant donné la dispersion rapide de la phase continue aqueuse, les réactions du type abcès ou granulomes ne sont pas retrouvées pour ce type d'émulsion. Cependant, cette solubilisation rapide diminue l'effet de dépôt de l'adjuvant. De plus, la liaison du MF59 à l'antigène n'a pas d'effet sur la réponse immune (341).

Cet adjuvant a notamment été utilisé à grande échelle lors de la campagne de vaccination contre la grippe pandémique (grippe A_H1N1) en 2009-2010. En effet, à l'exception des deux vaccins ne contenant pas d'adjuvant (Celvapan® et Panenza®), tous les autres vaccins disponibles (Pandemrix®, Focetria®, Celtura®, Q-Pan H1N1® et Humenza®) contenaient un adjuvant ou une combinaison d'adjuvants renfermant une émulsion huile dans eau avec du squalène.

Durant la campagne de vaccination contre la grippe pandémique, cette émulsion a permis d'augmenter la réponse immunitaire obtenue chez les personnes âgées (342), souvent immunodéprimées. Il a également permis d'élargir la protection à des souches virales dérivées de celles contenues dans le vaccin. Enfin, d'un point de vue économique, son utilisation a permis de diminuer la quantité d'antigène nécessaire par dose de vaccin.

Cet adjuvant a aussi été utilisé en France dans un vaccin contre la grippe saisonnière jusqu'en 2011. On le retrouvait sous la dénomination MF59 dans le vaccin Gripguard® du laboratoire Novartis. Il

s'agissait du seul vaccin contre la grippe saisonnière contenant un adjuvant. Le laboratoire justifiait sa présence par une potentielle stimulation du système immunitaire qui pouvait être potentiellement utile notamment chez les personnes âgées ou à risque d'immunodépression, mais sa supériorité par rapport aux vaccins classiques n'a jamais été vraiment démontrée.

6.4.2.4. AS03 et les systèmes d'adjuvants de GlaxoSmithKline (GSK) Biologicals

Les laboratoires GSK, devant la nécessité de potentialiser les réponses immunitaires aux antigènes recombinants ou sous-unitaires, ont développé divers systèmes adjuvants pour la conception de vaccins prophylactiques et thérapeutiques.

De manière générale, les systèmes adjuvants sont des formulations d'adjuvants classiques mélangés à des immunomodulateurs, spécifiquement adaptés à l'antigène et à la population cible. Ils peuvent activer le système immunitaire inné approprié et avoir par la suite un impact sur les réponses immunitaires adaptatives. AS04 est un système adjuvant qui a démontré des réalisations significatives dans plusieurs vaccins contre les maladies virales. AS02, un autre système adjuvant, est en cours d'évaluation dans divers contextes où une forte réponse des lymphocytes T est nécessaire pour offrir une protection. De même, AS01 a été développé pour les vaccins pour lesquels une forte induction de la réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T encore plus forte est nécessaire. Dans l'ensemble, les résultats cliniques prometteurs soutiennent fortement le concept de systèmes adjuvants et permettent le développement de nouveaux vaccins, mieux adaptés à la population cible et aux mécanismes immunitaires de protection.

Il s'agit de systèmes adjuvants (Adjuvant System AS) huile-dans-eau. L'AS01 est un adjuvant à base de liposomes, constitué de monophosphoryl lipide A (MPL) extrait de *Salmonella minnesota* et d'une molécule de saponine (QS-21) purifiée, extraite de l'écorce de l'arbre sud-américain *Quillaja saponaria Molina* (312).

L'AS03 est un adjuvant à base d' α -tocophérol et de squalène qui a été utilisé dans le vaccin contre la grippe pandémique A / H1N1 (Pandemrix®). Une dose d'AS03 contient 10.69 mg de [squalène](#), 11.86 mg de DL- [\$\alpha\$ -tocophérol](#) et 4.86 mg de [polysorbate 80](#).

Didierlaurent *et al.* rapportent que le Q-21 induit une réponse anticorps spécifique à l'antigène ainsi qu'une immunité à médiation cellulaire (343, 344). Lorsqu'il a été co-administré avec la protéine S recombinante de SRAS-CoV-1, le Q-21 a induit des titres élevés d'anticorps sériques spécifiques de l'antigène et a protégé de l'infection virale (345).

Le système AS01 a été utilisé dans le vaccin contre le paludisme RTS, récemment mis au point et a été testé dans le vaccin sous-unitaire contre le zona, le vaccin polyprotéine VIH-1 et le vaccin antituberculeux (346-349).

Par ailleurs, ces adjuvants ont également été utilisés avec une préparation de vaccin anti-SRAS-CoV-1 inactivé chez des souris et des hamsters. Le vaccin avec adjuvant AS01B était légèrement plus immunogène que le vaccin adjuvanté avec l'AS03A. Le vaccin adjuvanté chez les animaux immunisés a entraîné une meilleure protection que le vaccin non adjuvanté. Fait marquant, l'étude n'a pas observé de phénomène d'ADE dans les poumons ou le foie des hamsters après un challenge par le SARS-CoV-1 (350, 351).

Les sels d'aluminium sont également utilisés comme des plates-formes sur lesquelles de nouveaux adjuvants, constitués de divers agonistes du récepteur Toll-like (TLR), sont adsorbés. L'un de ceux-ci, connu sous le nom de système adjuvant 04 (AS04), a été utilisé dans les vaccins HPV et HBV : Cervarix®, un vaccin bivalent contre les papillomavirus humains 16 et 18, est le premier vaccin avec adjuvant AS04 qui a été approuvé par l'EMA en 2007 et par la FDA en 2009 (299).

L'AS04 est préparé à partir de lipide A 3-O-désacyl-4' monophosphoryle (MPL) et d'un sel d'aluminium. Le MPL est un lipopolysaccharide détoxifié (LPS) qui serait lui-même un agoniste spécifique du TLR4 (352).

Il a été montré que l'AS04, comparé à un adjuvant contenant uniquement du sel d'aluminium, induisait une réponse immunitaire efficace à long terme et durable dans les vaccins anti-HPV (353). Des études ont montré une production rapide de cytokines et le recrutement de diverses cellules immunitaires dans les muscles, avec drainage des ganglions lymphatiques au site d'injection en 3 à 6 heures après adjuvant MPL ou AS04 (354), qui a médié la réponse immunitaire précoce.

Bien que les sels d'aluminium ne soient pas synergiques avec le MPL, leur association a prolongé la réponse immunitaire en raison de la fonction d'effet de dépôt (311). Par ailleurs, il a été constaté que l'AS04 pouvait induire des réponses inflammatoires transitoires et locales et qu'il devait être co-inoculé avec l'antigène ou administré au même site d'injection dans un délai d'un jour après l'inoculation de l'antigène pour obtenir une activité adjuvante supérieure (311). Les niveaux d'IFN- γ , un marqueur de la réponse de type Th1, étaient plus élevés lorsque les antigènes VLP des HPV-16 et du HPV-18 étaient adjuvantés avec l'AS04 par rapport à l'hydroxyde d'aluminium seul. Ces résultats indiquent que l'AS04 est plus efficace pour induire l'amplification et la différenciation des lymphocytes T CD4+ et favorise une réponse de type Th1 (311).

6.4.2.5. CpG ODN 1018 (adjuvant de Dynavax)

Les oligodésoxynucléotides CpG (CpG ODN) sont des molécules d'ADN synthétiques, qui sont des ODN à squelette thiophosphate, contenant des motifs CpG non méthylés (355). Les motifs CpG apparaissent avec une fréquence plus élevée dans l'ADN bactérien et viral que dans l'ADN des vertébrés (356). En fonction de leur structure et de leurs fonctions biologiques, les séquences contenant les CpG peuvent être divisées en différentes classes (A, B, C, P et S), la classe CpG-B, à laquelle appartient le CpG 1018, est la plus couramment utilisée dans les essais précliniques et cliniques (357). HEPLISAV-B®, un vaccin contre l'HBV approuvé par la FDA en 2017, est le premier vaccin contenant le CpG ODN 1018. Comparé à Engerix-B® qui est adjuvanté avec de l'hydroxyde d'aluminium, HEPLISAV-B® a induit des réponses anticorps plus rapides et durables.

Le CpG ODN peut induire des réponses Th1, avec une forte génération de lymphocytes T CD8+ et la sécrétion d'IFN- γ (358). L'activation de TLR9 par le CpG ODN améliore les réponses immunitaires humorales et cellulaires spécifiques aux antigènes ; il peut ainsi être utilisé comme adjuvant pour la vaccination par les voies intramusculaire, sous-cutanée, orale et intranasale (359).

6.4.3. Les limites des interprétations des effets immunologiques des adjuvants

Les études sur l'immunopathologie des infections à coronavirus à l'origine d'infections respiratoires sévères (SARS-CoV-1, MERS-CoV, SARS-CoV-2) indiquent que la qualité de la réponse lymphocytaire et notamment CD4+ est importante et qu'un excès de réponse lymphocytaire de type Th2 pourrait être associé à un mauvais pronostic (144, 145). Alors qu'il est connu pour induire une réponse Th2, l'aluminium aurait plutôt un effet protecteur de ces mécanismes d'immunopathologie (157). Ceci associé à d'autres résultats a conduit certains auteurs à évoquer que, plus qu'un excès de réponse Th2, c'est l'existence d'une réponse de type Th17 exagérée qui pourrait être à l'origine des mécanismes d'immunopathologie (162, 163).

Par ailleurs, les effets immunologiques sont généralement observés *in vitro* ou *ex vivo* à partir de prélèvements sanguins. L'effet des adjuvants sur l'immunité muqueuse est exceptionnellement analysé, alors qu'il peut être majeur. L'illustration la plus parlante est celle obtenue récemment avec

une stratégie vaccinale anti-VIH. L'essai RV144 qui testait l'association d'un vecteur viral avec une protéine d'enveloppe du virus adjuvanté par l'alun et administré par voie IM a montré une protection de 31% (360). Les corrélats de protection sanguins liés à cette stratégie vaccinale ont été clairement identifiés (361).

Toutefois, alors que le changement d'adjuvant (alun pour MF59) conduit dans le modèle simien à l'induction des mêmes effecteurs immunologiques associés à la protection, ce changement d'adjuvant conduit à la perte de la protection vaccinale (362). L'analyse dans ce modèle animal met en évidence un impact complètement différent des deux adjuvants sur l'immunité digestive (362). Ceci conduit à bien garder en tête la différence entre corrélats de protection et des substituts de protection (363).

6.4.4. Tolérance des adjuvants

6.4.4.1. Tolérance locale

Selon la revue de la littérature de Petrovsky N (2015) (364), les effets secondaires locaux déjà connus et décrits et associés aux adjuvants sont d'intensité variable, de légère (à type de douleur au site d'injection, sensibilité, rougeur, inflammation et œdème), jusqu'à la formation de granulomes, abcès stériles, lymphadénopathie et ulcération cutanée chronique (365).

Cette toxicité locale peut être due à une irritation chimique directe, liée à un pH non physiologique, à une osmolarité, à des concentrations de sels ou à une toxicité cellulaire directe. Ces effets locaux irritants sont typiquement associés à des douleurs au site d'injection, suivies par une réponse inflammatoire déclenchée par les lésions tissulaires. Ces réactions immédiates sont susceptibles de refléter une irritation et une inflammation induites par le composant adjuvant lui-même mais, si elles sont retardées de 24 à 48 h, elles peuvent également refléter une hypersensibilité excessive de type retardée contre un composant de vaccin (366).

Sans avoir d'impact sur la mortalité, la morbidité liée à ces problèmes de tolérance locale peut être importante (par exemple, nécessité d'un drainage d'un abcès stérile ou greffe de peau post-ulcération). Elle peut par ailleurs avoir un impact négatif important sur la perception du public du rapport bénéfice/risque du vaccin et ainsi sur son acceptabilité.

6.4.4.2. Tolérance générale

La réactivité générale inclut des symptômes divers, à type de fièvre, céphalées, malaises, nausées, diarrhée, arthralgies, myalgies et somnolence, reflétant l'activation de la réponse immunitaire innée et des phénomènes d'inflammation en aval.

Les adjuvants qui activent fortement les récepteurs immunitaires innés et ceux qui induisent des lésions tissulaires (par exemple, émulsions d'huile et saponines) peuvent donc être les plus susceptibles d'entraîner ce type de réactivité (367). Les symptômes peuvent parfois durer jusqu'à plusieurs semaines après la vaccination.

Rarement, des complications immunologiques ont été observées (éosinophilie, réactions allergiques et phénomène d'anaphylaxie), induites par une réponse cellulaire de type Th2, notamment avec des adjuvants à base d'aluminium (368).

Par ailleurs, la présence d'aluminium a été décrite dans les granulomes de la myofasciite à macrophages (cf. paragraphe sur les sels d'aluminium) mais aucune corrélation n'a été démontrée entre cette constatation anatomique et des manifestations cliniques systémiques.

Enfin, il existe un risque qu'un adjuvant agisse comme déclencheur ou puisse augmenter la probabilité d'un vaccin de provoquer une maladie auto-immune. Par exemple, les adjuvants de type émulsion huile dans eau peuvent induire une arthrite chez des modèles animaux génétiquement sensibles (369).

Cet aspect relatif aux maladies auto-immunes a été largement débattu : les maladies auto-immunes spontanées n'affectant qu'un petit nombre d'individus génétiquement sensibles dans la population générale, et le délai entre vaccination et apparition de la symptomatologie pouvant être très long, il est quasiment impossible d'établir un lien de causalité.

Par ailleurs, quelques études antérieures avec un vaccin inactivé contre le SARS-CoV-1 et un vaccin MERS-CoV seul ou avec adjuvant avaient montré des phénomènes d'aggravation de la pathologie lors des épreuves de challenge. Or, à ce jour, il n'y a pas encore de preuve que l'augmentation de l'ADE pourrait être associée au vaccin contre le SRAS-CoV-2 et des expériences plutôt récentes avec des vaccins contre le SARS-CoV-2 ont montré des résultats prometteurs sans ADE chez les rongeurs et les macaques (86, 88, 370). Par ailleurs, l'incorporation d'un adjuvant induisant principalement la voie de type Th1 pourrait résoudre le problème de l'ADE (369).

Le tableau ci-dessous, tiré de l'article de Gupta T. et Gupta SK. (312) reprend les principaux effets secondaires répertoriés parmi les adjuvants utilisés dans le cadre du développement des vaccins contre l'infection par le SARS-CoV-2.

Tableau 16 : Adjuvants utilisés dans le cadre du développement des vaccins anti-SARS-CoV-2 et indications dans lesquelles ils sont déjà approuvés ou en cours d'étude d'après Gupta et Gupta, 2020 (312)

Adjuvant	Effets secondaires possibles	Autorisations actuelles
Aluminium	Granulomes, allergie, neurotoxicité possible	Hépatites A, B, Hib, DTaP, Tdap, etc.
MF59TM	Douleur au site d'injection, réaction inflammatoires, ulcération granulomateuse stérile	Grippe (FLUAD)
AS01/AS03/AS04	Douleur au site d'injection, réaction inflammatoires, ulcération granulomateuse stérile	RZV, Grippe (Shingrix), HPV (Cervarix)
Delta Inulin	Réactions locales légères	En développement dans la grippe et HBV
Matrix-M™	Réactions locales au site d'injection et systémiques d'intensité modérées (céphalées, myalgies, asthénie)	En développement clinique dans la grippe (H5N1)
Montanide ISA-51	Douleur au site d'injection, réaction inflammatoires, ulcération granulomateuse stérile	Cancer du poumon (CIMAvox EGF) à Cuba
TLR3	PolyICLC Neutropénie transitoire, réactions légères au site d'injection, érythème et induration au site d'injection, syndromes pseudo-grippaux (malaise, céphalées, fièvre, frissons)	En développement en oncologie et VIH
TLR4	Réactions indésirables d'intensité modérée (réactions érythémateuses, sensibilité, hyperthermie)	Approuvé pour une utilisation dans un système adjuvant (AS)GLA + en cours de développement dans des essais cliniques
TLR9	Réactions au site d'injection ou symptômes de type grippe	CpG1018 dans un vaccin anti-HBV (HEPLISAV-B)

TLR7/8	Réactions au site d'injection et symptômes systémiques de type grippe pouvant déclencher une maladie auto-immune	Imiquimod R837 autorisé en application locale dans le carcinome à cellules basales et squameuses
ROv-ASP-1	Aucune réaction chez les primates non humains	En développement préclinique dans des essais vaccinaux (grippe et VIH)
Protollin	Rhinorrhée, congestion nasale d'intensité modérée, malaise, myalgie, céphalées	En développement préclinique dans des essais vaccinaux (grippe, Rougeole, VRS)
CoVaccine HTTM	Augmentation temporaire des neutrophiles chez les singes rhésus / absence de réaction chez les macaques	En développement clinique (phase 1)

Conclusion

Contrairement aux vaccins vivants atténués, aux vaccins ARN et à ceux fondés sur l'utilisation d'un vecteur viral, les autres types de vaccins peuvent nécessiter l'ajout d'un adjuvant pour une efficacité optimale.

Les adjuvants ayant déjà été utilisés lors du développement des vaccins contre les autres coronavirus pathogènes chez l'Homme, sont : l'aluminium, le MF59, le Montanide ISA51/CpG, le Matrix-M™, le Q21, l'AS01/AS03n, la Delta inulin (Advax™)+CpG, les ligands TLR, le rOv-ASP-1 et la Protolline. Parmi les candidats vaccins contre le SARS-CoV-2 en phase clinique de développement, au moins 11 comportent des adjuvants : aluminium, Matrix-M™, Advax™, MF59, AS04 et CpG 1018.

Les adjuvants peuvent avoir plusieurs fonctions, notamment la capacité à augmenter l'immunogénicité des vaccins en modulant et orientant la réponse immunitaire. L'induction préférentielle d'une réponse lymphocytaire T CD4+ de type Th1, ainsi que l'induction d'une réponse lymphocytaire T CD8+ semblent intéressantes dans la protection ou le contrôle des infections par les coronavirus et notamment par le SARS-CoV-2. Parmi les adjuvants ci-dessus, on notera que les dérivés de l'aluminium et le MF59 induisent préférentiellement une réponse Th2, l'AS04 et le CpG 1018 préférentiellement une réponse Th1, et, enfin, Matrix-M™ et Advax™ des réponses Th1/Th2 équilibrées. Il est important de noter que l'aluminium a pu donner des résultats intéressants avec des vaccins anti-SARS-CoV-1 malgré sa polarisation Th1/Th2 considérée comme défavorable ; cet adjuvant a par ailleurs l'avantage d'une utilisation ancienne avec un profil de sécurité bien connu, ce qui n'est pas le cas pour les autres.

Table des annexes

Annexe 1. Recherche documentaire	99
Annexe 2. Essais de phase 3 en cours pour les candidats vaccins en phase de développement clinique	103

Table des figures

Figure 1 : Structure du SARS-CoV-2	23
Figure 2 : Structure du génome	23
Figure 3 : Le cycle de multiplication intracellulaire du SARS-CoV-2	25
Figure 4 : Phénomène d'ADE (antibody dependant enhancement)	48
Figure 5 : Les tests de neutralisation avec du SARS-CoV-2 ou un pseudovirus	54
Figure 6 : Les différentes plateformes utilisées dans le cadre du développement des candidats vaccins contre le SARS-CoV-2	66

Table des tableaux

Tableau 1 : Candidats vaccins pour lesquels des résultats d'essai de phase 1 et/ou 2 ont été publiés jusqu'à ce jour	19
Tableau 3 : Variabilité du SARS-CoV-2	28
Tableau 4 : Principaux changements d'acide aminé décrits dans le gène S (GISAID au 14/11/2020)	29
Tableau 5 : Résultats obtenus avec les différents candidats vaccins anti SARS-CoV-2 les plus avancés (adapté de Krammer, 2020 (83))	37
Tableau 6 : Caractéristiques des coronavirus animaux contre lesquels a été développé un vaccin	40
Tableau 7 : Principaux anticorps neutralisants contre le SARS-CoV-1 (d'après Jiang S <i>et al.</i> , Trends in Immunology, 2020)	46
Tableau 8 : Les études de phase 1 avec vaccins anti SARS CoV-1 et MERS-CoV	51
Tableau 9 : Protéines du SARS-CoV-2 ciblées par la réponse immunitaire adaptative	55
Tableau 10 : Réponse immunitaire adaptative en fonction du statut infectieux vis à vis du SARS CoV2	55
Tableau 11 : Premières études sérologiques au cours de l'infection par le SARS-CoV-2	58
Tableau 12 : Synthèse des cas de réinfections (adapté de Kim et Gandhi, 2020 (207))	63
Tableau 13: Vaccins anti-SARS-CoV-2 et Plateformes vaccinales classiques	67

Tableau 14 : Caractéristiques des principales nouvelles plateformes vaccinales utilisées dans le cadre du développement d'un vaccin anti-SARS-CoV	71
Tableau 15 : Propriétés immunologiques des principales plateformes utilisées dans le cadre du développement des vaccins contre le SARS-CoV-2 (d'après Jeyanathan <i>et al.</i> (248) et Funk <i>et al.</i> (249)).....	76
Tableau 17 : Les différents adjuvants aluminiques.....	89
Tableau 18 : Adjuvants utilisés dans le cadre du développement des vaccins anti-SARS-CoV-2 et indications dans lesquelles ils sont déjà approuvés ou en cours d'étude d'après Gupta et Gupta, 2020 (285)).....	(95

Annexe 1. Recherche documentaire

1 - Bases de données bibliographiques

La recherche a porté sur les publications en langue anglaise et française dans les bases Embase, Lissa et Medline. Des recherches complémentaires ont été menées dans les bases de l'OMS, dans les bases de prépublications et sur le site de Science Direct.

Le tableau 1 présente de façon synthétique les étapes successives de l'interrogation dans les bases de données Embase et Medline. La stratégie d'interrogation des bases de données précise pour chaque question et / ou types d'étude les termes de recherche utilisés, les opérateurs booléens et la période de recherche.

Les termes de recherche utilisés sont soit des termes issus de thésaurus (descripteurs), soit des termes libres (du titre ou du résumé). Ils sont combinés avec les termes décrivant les types d'études.

Tableau 1 : Stratégie de recherche dans les bases de données Embase et Medline

Type d'étude / sujet	Termes utilisés	Période
Task force stratégie vaccinale Covid-19 – Axe 2 – Immunologie – Réponse immune		01/2002- 06/2020
Etape 1	MJMESH.EXACT("SARS Virus") OR ti(SARS-COV-2) OR ti(SARSCov2) OR ti(Covid-19) OR ti(Covid19) OR MJEMB.EXACT("SARS coronavirus") OR ti(coronavirus infection*) OR ti(2019-nCov) OR ti(SARS-Cov-1) OR ti(SARSCov1) OR ti(MERS-CoV) OR ti("MERS")	106 références
ET		48 sélectionnées
Etape 2	MJEMB.EXACT("antibody response") OR MJEMB.EXACT("cellular immunity") OR MJEMB.EXACT("immunogenicity") OR MJEMB.EXACT("vaccine immunogenicity") OR MJMESH.EXACT("Immunogenicity, Vaccine") OR MJMESH.EXACT("Antibody Formation") OR MJMESH.EXACT("Immunity, Cellular") OR MJMESH.EXACT("Cytotoxicity, Immunologic") OR ti(immunogenicity PRE/0 assessment) OR ti (biodistribution) OR TI(antibody PRE/0 response) OR ti("cell mediated immune response") OR ti("cytotoxic T cell responses") OR ti("in vivo tracking")	
Task force stratégie vaccinale Covid-19 – Axe 2 – Immunologie – Adjuvants		01/2019- 06/2020
Etape 1		
ET		72 références

Etape 3 ti(vaccination) OR ti(vaccine) OR ti(vaccines) OR
ti(immunization) OR ti(immunizations) OR ti(vaccinology)

Etape 4 TI(adjuvant*) OR MJEMB.EXACT("adjuvant") OR 14 sélectionnées
MJMESH.EXACT("Adjuvants, Immunologic")

ET

Etape 5 TI(review) OR EMB.EXACT(review) OR DTYPE(review)

Task force stratégie vaccinale Covid-19 – Axe 2 – Immunologie – 01/2002- 07/2020
Anticorps

Etape 5 87 références

ET

Etape 6 MJEMB.EXACT("post exposure prophylaxis") OR 11 sélectionnées
MJEMB.EXACT("prophylaxis") OR
MJEMB.EXACT("infection prevention") OR
MJMESH.EXACT("Infection Control") OR
MJMESH.EXACT("Post-Exposure Prophylaxis") OR
MJMESH.EXACT("Pre-Exposure Prophylaxis") OR
ti("preventive treatment") OR ti("preventive use") OR
ti(prophylaxis) OR ti("post exposition") OR ti("infection
prevention")

ET

Etape 7 MJMESH.EXACT("Antibodies, Monoclonal") OR
MJMESH.EXACT("Antibodies, Neutralizing") OR
MJEMB.EXACT("monoclonal antibody") OR
MJEMB.EXACT("neutralizing antibody") OR ti(antibod*)

Task force stratégie vaccinale Covid-19 – Axe 2 – Immunologie – 01/2002- 06/2020
Mutations

Etape 1

ET 198 références

Etape 8 MJEMB.EXACT("virus strain") OR
MJMESH.EXACT("Genome, Viral") OR
MJMESH.EXACT("Mutation") OR MJEMB.EXACT("virus
genome") OR MJEMB.EXACT("virus mutation") OR ti(virus
strain*) OR ti(viral strain*) OR ti (viral genome) OR
ti(mutation) OR ti(mutations) 109
sélectionnées

Task force stratégie vaccinale Covid-19 – Axe 2 – Immunologie – 01/2002- 06/2020
Plateformes vaccinales

Etape 9 Ti(vaccine design) OR TI(vaccine platform*) OR ti(vaccine technology) OR ti(vaccine technologies) OR ti(platform* technology) OR ti(platform* technologies)

ET 84 références

Etape 10 EMB.EXACT("nucleic acid") OR EMB.EXACT("virus like agent") OR EMB.EXACT("virus vector") OR EMB.EXACT("peptide") OR EMB.EXACT("live vaccine") OR EMB.EXACT("recombinant protein") OR EMB.EXACT("virus inactivation") OR MESH.EXACT("Nucleic Acids") OR MESH.EXACT("Vaccines, Virus-Like Particle") OR MESH.EXACT("Peptide Nucleic Acids") OR MESH.EXACT("Viral Vaccines") OR MESH.EXACT("Recombinant Proteins") OR MESH.EXACT("Vaccines, Inactivated") OR ti(nucleic acid) OR ti(virus like particle) OR ti(peptide) OR ti(viral vector) OR ti(recombinant protein) OR ti(live attenuated virus) OR ti(inactivated virus)

ET

Etape 11 TI(clinical PRE/0 trial*) OR TI(versus) OR MESH.EXACT(Clinical Trial) OR EMB.EXACT(Clinical Trial)

Task force stratégie vaccinale Covid-19 – Axe 2 – Immunologie – 01/2019- 06/2020
Modèles animaux

Etape 1

ET 241 références

Etape 12 ti(animal* PRE/0 model*) OR MESH.EXACT("Models, Animal") OR EMB.EXACT("animal model") OR ti(mice model) OR ti(mouse model)

38 sélectionnées

2 – Veille

Une veille quotidienne systématique a été effectuée dans les bases de prépublications BioRxiv et MedRxiv, dans les bases Embase, Medline. Elle est encore en cours.

En parallèle une veille a été menée sur la presse scientifique ainsi qu'une veille médiatique.

Une surveillance quotidienne des essais cliniques est également effectuée.

3 – Sites consultés

- Advisory Committee on Immunization Practices US - ACIP
- Agence de la santé publique du Canada
- Agence nationale de sécurité du médicament - ANSM
- Australian Technical Advisory Group on Immunisation AUS - ATAGI
- Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health - CADTH
- Centers for Disease Control and Prevention - CDC
- Centre fédéral d'expertise des soins de santé - KCE
- Centre for Reviews and Dissemination databases
- Clinicals trials
- Cochrane library
- Comité consultatif national de l'immunisation CA – CCNI
- Conseil supérieur de la santé - Belgique
- Department of health - Australian gouvernement
- European Centre for Disease Prevention and Control - ECDC
- Food and Drug Administration - FDA
- Guidelines International Network - GIN
- Haut conseil de la santé publique - HCSP
- Institut national d'excellence en santé et en services sociaux – INESSS
- Institut de recherche et de documentation en économie de la santé – IRDES
- Joint Committee on Vaccination and Immunisation – UK - JCVI
- Ministère des Solidarités et de la Santé – France
- Ministry of health - New Zealand
- National Advisory Committee on Immunization CA - NACI
- National Health Services - NHS
- National Immunization Technical Advisory Groups - NITAG
- National Institute for Health and Clinical Excellence - NICE
- National Institutes of Health – NIH
- Public health England
- Robert Koch Institute ALL
- Santé publique France - SPF
- Tripdatabase
- World Health Organization – WHO

Annexe 2. Essais de phase 3 en cours pour les candidats vaccins en phase de développement clinique

Promoteur	Plateforme utilisée	Autres vaccins développés	Nom Vaccin	N doses	Schéma	N	Age	Pays RCT	Phase et Num Essai	Commentaires
University of Oxford/AstraZeneca	Vecteur viral non répliatif	MERS, influenza, TB, Chikungunya, Zika, MenB, peste	ChAdOx1-S	1	J0	1600	>=18	Inde	Phase2/3 CTRI/2020/08/027170	
				2	J0+J28	100	>=18	Russie	Phase 3 NCT04540393 (non encore actif)	
				2	J0+J28	30000	>=18	USA	Phase 3 NCT04516746	Autorisation de reprise par la FDA le 23/10/2020
				1	J0	2000	18-55	Brésil	Phase 3 ISRCTN89951424 NCT04516746	06/09/2020 : 1 Ev.Ind neurologique (myélite)
				1	J0	12303	5-12 / 18-55 / 55-69 / >=70ans	UK	Phase 2b/3 2020-001228-32	
Janssen Pharmaceutical Companies	Vecteur viral non répliatif		Ad26COVS1	1	J0	60000	>=18	USA	Phase 3 NCT04505722	Essai en pause : 1 Ev.ind non détaillé
				1	J0					
						30000	>=18	USA, Europe (dont France),	Phase 3 NCT04617483	Essai non encore actif

Promoteur	Plateforme utilisée	Autres vaccins développés	Nom Vaccin	N doses	Schéma	N	Age	Pays RCT	Phase et Num Essai	Commentaires
								Philippines, Afrique du Sud		
Moderna/NIAID	ARN		LNP-encapsulated mRNA	2	J0+J28	30000	>=18	USA	Phase 3 NCT04470427	1er résultats préliminaires de l'essai communiqués le 16/11/2020
BioNTech/Fosun Pharma/Pfizer	ARN		3 LNP-mRNAs	2	J0+J28	29481	>=16 / 18-55 / 65-85	USA	Phase 3 NCT04368728	1er résultats préliminaires de l'essai communiqués le 09/11/2020
Novavax	Vaccin protéique	RSV; CCHF, HPV, VZV, EBOV	Full length recombinant SARS CoV-2 glycoprotein nanoparticle vaccine + Matrix M1	2	J0+J21	9000	18-84	Europe	Phase 3 2020-004123-16	
Gamaleya Research Institute	Vecteur viral non répliatif	ND	Adeno-based	2	J0+J21	100	18-60	Biélorussie	Phase 3 NCT04564716	1er résultats préliminaires de l'essai communiqués le 11/11/2020
				2	J0+J21	40000	18-111	Russie	Phase 3 NCT04530396	

Promoteur	Plateforme utilisée	Autres vaccins développés	Nom Vaccin	N doses	Schéma	N	Age	Pays RCT	Phase et Num Essai	Commentaires
CanSino Biological Inc./Beijing Institute of Biotechnology	Vecteur viral non répliquatif	Ebola	Adenovirus Type 5 Vector	1	J0	500	18-85	Russie	Phase 3 NCT04540419	
				1	J0	40000	>=18	Pakistan	Phase 3 NCT04526990	
Sinovac PT Bio Farma	Vaccin inactivé	SARS	CoronaVac +Alum	2	J0+J14	1620	18-59	Indonésie	Phase 3 NCT04508075	
				2	J0+J14	13000	18-59	Turquie	Phase 3 NCT04582344	
				2	J0+J14	8870	>=18 ans	Brésil	Phase 3 NCT04456595	
				2	J0+J14	1040 (dont 260 sujets ≥60 ans)	>=18 ans	Chine	Phase 3 NCT04617483	Essai de non infériorité (personnes âgées vs adultes +jeunes)
Wuhan Institute of Biological Products/Sinopharm	Vaccin inactivé			NC	NC	NC	>=18 ans	Maroc	Phase 3 ChiCTR2000039000	

Promoteur	Plateforme utilisée	Autres vaccins développés	Nom Vaccin	N doses	Schéma	N	Age	Pays RCT	Phase et Num Essai	Commentaires
				2	J0+J14 ou J0+J21	45000	>=18	Emirats Arabes Unis	Phase 3 NCT04510207 ChiCTR2000034780	
Beijing Institute of Biological Products/Sinopharm	Vaccin inactivé			2	J0+J21	3000	18-85	Argentine	Phase 3 NCT04560881	
				2	J0+J14 ou J0+J21	15000	>=18	Emirats Arabes Unis	Phase 3 ChiCTR2000034780	
Anhui Zhifei Longcom Biopharmaceutical/Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences	Vaccin protéique	MERS	Adjuvanted recombinant protein (RBD-Dimer) +Adj	2 ou 3	J0+J28 ou J0+J28+J56	900	18-59	Chine	Phase 3 NCT04466085	
Bharat Biotech	Vaccin inactivé		BBV152B +Alun	2	ND	600	>=18	Inde	Phase 3 NCT04560881	

Références

1. Zhu FC, Li YH, Guan XH, Hou LH, Wang WJ, Li JX, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vectored COVID-19 vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, first-in-human trial. *Lancet* 2020.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31208-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31208-3)
2. Ramasamy MN, Minassian AM, Ewer KJ, Flaxman AL, Folegatti PM, Owens DR, et al. Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet* 2020.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)32466-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(20)32466-1)
3. Folegatti PM, Bittaye M, Flaxman A, Lopez FR, Bellamy D, Kupke A, et al. Safety and immunogenicity of a candidate Middle East respiratory syndrome coronavirus viral-vectored vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, uncontrolled, phase 1 trial. *Lancet Infect Dis* 2020;20(7):816-26.
[http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30160-2](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30160-2)
4. Xia S, Duan K, Zhang Y, Zhao D, Zhang H, Xie Z, et al. Effect of an inactivated vaccine against SARS-CoV-2 on safety and immunogenicity outcomes: interim analysis of 2 randomized clinical trials. *JAMA* 2020;324(10):951-60.
<http://dx.doi.org/10.1001/jama.2020.15543>
5. Jackson LA, Anderson EJ, Roupheal NG, Roberts PC, Makhene M, Coler RN, et al. An mRNA vaccine against SARS-CoV-2: preliminary report. *N Engl J Med* 2020.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2022483>
6. Anderson EJ, Roupheal NG, Widge AT, Jackson LA, Roberts PC, Makhene M, et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 mRNA-1273 vaccine in older adults. *N Engl J Med* 2020.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2028436>
7. Mulligan MJ, Lyke KE, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, et al. Phase I/II study of COVID-19 RNA vaccine BNT162b1 in adults. *Nature* 2020;586(7830):589-93.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2639-4>
8. Keech C, Albert G, Cho I, Robertson A, Reed P, Neal S, et al. Phase 1-2 trial of a SARS-CoV-2 recombinant spike protein nanoparticle vaccine. *N Engl J Med* 2020.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2026920>
9. Sadoff J, Le Gars M, Shukarev G, Heerwegh D, Truyers C, de Groot AM, et al. Safety and immunogenicity of the Ad26.COV2.S COVID-19 vaccine candidate: interim results of a phase 1/2a, double-blind, randomized, placebo-controlled trial [preprint]. *medRxiv* 2020.
<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.09.23.20199604>
10. Logunov DY, Dolzhikova IV, Zubkova OV, Tukhvatullin AI, Shcheblyakov DV, Dzharullaeva AS, et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet* 2020;396(10255):887-97.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)31866-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(20)31866-3)
11. Xia S, Zhang Y, Wang Y, Wang H, Yang Y, Gao GF, et al. Safety and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, BBIBP-CorV: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 trial. *Lancet Infect Dis* 2020.
[http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30831-8](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30831-8)
12. Ward BJ, Gobeil P, Séguin A, Atkins J, Boulay I, Charbonneau PY, et al. Phase 1 trial of a candidate recombinant virus-like particle vaccine for Covid-19 disease produced in plants [preprint]. *medRxiv* 2020.
13. Mousavizadeh L, Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect* 2020.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.022>

14. Khailany RA, Safdar M, Ozaslan M. Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2. *Gene Rep* 2020;19:100682. <http://dx.doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100682>
15. Jungreis I, Sealfon R, Kellis M. Sarbecovirus comparative genomics elucidates gene content of SARS-CoV-2 and functional impact of COVID-19 pandemic mutations [preprint]. *bioRxiv* 2020. <http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.06.02.130955>
16. Chen WH, Hotez PJ, Bottazzi ME. Potential for developing a SARS-CoV receptor-binding domain (RBD) recombinant protein as a heterologous human vaccine against coronavirus infectious disease (COVID)-19. *Hum Vaccin Immunother* 2020;16(6):1239-42. <http://dx.doi.org/10.1080/21645515.2020.1740560>
17. Tang F, Quan Y, Xin ZT, Wrammert J, Ma MJ, Lv H, et al. Lack of peripheral memory B cell responses in recovered patients with severe acute respiratory syndrome: a six-year follow-up study. *J Immunol* 2011;186(12):7264-8. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.0903490>
18. Uddin M, Mustafa F, Rizvi TA, Loney T, Al Suwaidi H, Hassan Al-Marzouqi A, et al. SARS-CoV-2/COVID-19: viral genomics, epidemiology, vaccines, and therapeutic interventions. *Viruses* 2020;12(5):526. <http://dx.doi.org/10.3390/v12050526>
19. Chaw SM, Tai JH, Chen SL, Hsieh CH, Chang SY, Yeh SH, et al. The origin and underlying driving forces of the SARS-CoV-2 outbreak. *J Biomed Sci* 2020;27:73. <http://dx.doi.org/10.1186/s12929-020-00665-8>
20. Tiwari M, Mishra D. Investigating the genomic landscape of novel coronavirus (2019-nCoV) to identify non-synonymous mutations for use in diagnosis and drug design. *J Clin Virol* 2020;128:104441. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104441>
21. Paraskevis D, Kostaki EG, Magiorkinis G, Panayiotakopoulos G, Sourvinos G, Tsiodras S. 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* 2020;79:104212. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104212>
22. Ceraolo C, Giorgi FM. Genomic variance of the 2019-nCoV coronavirus. *J Med Virol* 2020;92(5):522-8. <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.25700>
23. Wen F, Yu H, Guo J, Li Y, Luo K, Huang S. Identification of the hyper-variable genomic hotspot for the novel coronavirus SARS-CoV-2 [letter]. *J Infect* 2020;80(6):679-81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2020.02.027>
24. Benvenuto D, Giovanetti M, Salemi M, Prosperi M, de Flora C, Junior Alcantara LC, et al. The global spread of 2019-nCoV: a molecular evolutionary analysis. *Pathog Glob Health* 2020;114(2):64-7. <http://dx.doi.org/10.1080/20477724.2020.1725339>
25. Patiño-Galindo JÁ, Filip I, AlQuraishi M, Rabadan R. Recombination and lineage-specific mutations led to the emergence of SARS-CoV-2 [preprint]. *bioRxiv* 2020. <http://dx.doi.org/10.1101/2020.02.10.942748>
26. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020;382(8):727-33. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>
27. van Dorp L, Acman M, Richard D, Shaw LP, Ford CE, Ormond L, et al. Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Infect Genet Evol* 2020;83:104351. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104351>
28. Tang X, Wu C, Li X, Song Y, Yao X, Wu X, et al. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *Nat Sci Rev* 2020;7(6):1012-23.
29. Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, Hill V, McCrone JT, Ruis C, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol* 2020;5(11):1403-7. <http://dx.doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5>
30. Forster P, Forster L, Renfrew C, Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2

- genomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020;117(17):9241-3.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.2004999117>
31. Kim JS, Jang JH, Kim JM, Chung YS, Yoo CK, Han MG. Genome-wide identification and characterization of point mutations in the SARS-CoV-2 genome. *Osong Public Health Res Perspect* 2020;11(3):101-11.
<http://dx.doi.org/10.24171/j.phrp.2020.11.3.05>
32. Pathan RK, Biswas M, Khandaker MU. Time series prediction of COVID-19 by mutation rate analysis using recurrent neural network-based LSTM model. *Chaos Solitons Fractals* 2020;138:110018.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chaos.2020.110018>
33. MacLean OA, Orton RJ, Singer JB, Robertson DL. No evidence for distinct types in the evolution of SARS-CoV-2. *Virus Evol* 2020;6(1):veaa034.
<http://dx.doi.org/10.1093/ve/veaa034>
34. Li X, Wang W, Zhao X, Zai J, Zhao Q, Li Y, et al. Transmission dynamics and evolutionary history of 2019-nCoV. *J Med Virol* 2020;92(5):501-11.
<http://dx.doi.org/10.1002/jmv.25701>
35. Hahn BH, Shaw GM, Taylor ME, Redfield RR, Markham PD, Salahuddin SZ, et al. Genetic variation in HTLV-III/LAV over time in patients with AIDS or at risk for AIDS. *Science* 1986;232(4757):1548-53.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.3012778>
36. Li WH, Tanimura M, Sharp PM. Rates and dates of divergence between AIDS virus nucleotide sequences. *Mol Biol Evol* 1988;5(4):313-30.
<http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040503>
37. Leitner T, Albert J. The molecular clock of HIV-1 unveiled through analysis of a known transmission history. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(19):10752-7.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.96.19.10752>
38. Al-Qahtani AA, Mubin M, Dela Cruz DM, Althawadi SI, UI Rehman MS, Bohol MF, et al. Phylogenetic and nucleotide sequence analysis of influenza A (H1N1) HA and NA genes of strains isolated from Saudi Arabia. *J Infect Dev Ctries* 2017;11(1):81-8.
<http://dx.doi.org/10.3855/jidc.9259>
39. Dilucca M, Forcelloni S, Georgakilas AG, Giansanti A, Pavlopoulou A. Codon usage and phenotypic divergences of SARS-CoV-2 genes. *Viruses* 2020;12(5):498.
<http://dx.doi.org/10.3390/v12050498>
40. Padilla-Rojas C, Lope-Pari P, Vega-Chozo K, Balbuena-Torres J, Caceres-Rey O, Bailon-Calderon H, et al. Near-complete genome sequence of a 2019 Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) strain causing a COVID-19 case in Peru. *Microbiol Resour Announc* 2020;9(19):9:e00303-20.
<http://dx.doi.org/10.1128/MRA.00303-20>
41. Maitra A, Sarkar MC, Raheja H, Biswas NK, Chakraborti S, Singh AK, et al. Mutations in SARS-CoV-2 viral RNA identified in Eastern India: possible implications for the ongoing outbreak in India and impact on viral structure and host susceptibility. *J Biosci* 2020;45(1):76.
<http://dx.doi.org/10.1007/s12038-020-00046-1>
42. Becerra-Flores M, Cardozo T. SARS-CoV-2 viral spike G614 mutation exhibits higher case fatality rate. *Int J Clin Pract* 2020:e13525.
<http://dx.doi.org/10.1111/ijcp.13525>
43. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Tracking changes in SARS-CoV-2 spike: evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell* 2020;182(4):812-27 e19.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.043>
44. Benvenuto D, Demir AB, Giovanetti M, Bianchi M, Angeletti S, Pascarella S, et al. Evidence for mutations in SARS-CoV-2 Italian isolates potentially affecting virus transmission. *J Med Virol* 2020.
<http://dx.doi.org/10.1002/jmv.26104>
45. Wang M, Li M, Ren R, Li L, Chen EQ, Li W, et al. International expansion of a novel SARS-CoV-2 mutant [letter]. *J Virol* 2020;94(12):e00567-20.
<http://dx.doi.org/10.1128/JVI.00567-20>
46. Cheng MH, Zhang S, Porritt RA, Noval Rivas M, Paschold L, Willscher E, et al. Superantigenic character of an insert unique to SARS-CoV-2 spike supported by skewed TCR repertoire in patients with hyperinflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020;117(41):25254-62.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.2010722117>

47. Weisblum Y, Schmidt F, Zhang F, DaSilva J, Poston D, Lorenzi JC, et al. Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants [preprint]. *bioRxiv* 2020. <http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.07.21.214759>
48. Baum A, Fulton BO, Wloga E, Copin R, Pascal KE, Russo V, et al. Antibody cocktail to SARS-CoV-2 spike protein prevents rapid mutational escape seen with individual antibodies. *Science* 2020;369(6506):1014-8. <http://dx.doi.org/10.1126/science.abd0831>
49. Wong AH, Tomlinson AC, Zhou D, Satkunarajah M, Chen K, Sharon C, et al. Receptor-binding loops in alphacoronavirus adaptation and evolution. *Nat Commun* 2017;8(1):1735. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-017-01706-x>
50. Li Q, Wu J, Nie J, Zhang L, Hao H, Liu S, et al. The impact of mutations in SARS-CoV-2 spike on viral infectivity and antigenicity. *Cell* 2020;182(5):1284-94 e9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.07.012>
51. Weissman D, Alameh MG, de Silva T, Collini P, Hornsby H, Brown R, et al. D614G spike mutation increases SARS CoV-2 susceptibility to neutralization [preprint]. *medRxiv* 2020. <http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.07.22.20159905>
52. Schiffer JM, Chen L, Dalton S, Niemuth NA, Sabourin CL, Quinn CP. Bridging non-human primate correlates of protection to reassess the Anthrax Vaccine Adsorbed booster schedule in humans. *Vaccine* 2015;33(31):3709-16. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.05.091>
53. Herati RS, Wherry EJ. What is the predictive value of animal models for vaccine efficacy in humans? Consideration of strategies to improve the value of animal models. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2018;10(4):a031583. <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a031583>
54. Yuan L, Tang Q, Cheng T, Xia N. Animal models for emerging coronavirus: progress and new insights. *Emerg Microbes Infect* 2020;9(1):949-61. <http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2020.1764871>
55. Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science* 2020;368(6494):1016-20. <http://dx.doi.org/10.1126/science.abb7015>
56. Sit TH, Brackman CJ, Ip SM, Tam KW, Law PY, To EM, et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature* 2020. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2334-5>
57. Oreshkova N, Molenaar RJ, Vreman S, Harders F, Oude Munnink BB, Hakze-van der Honing RW, et al. SARS-CoV-2 infection in farmed minks, the Netherlands, April and May 2020. *Euro Surveill* 2020;25(23).
58. Kim YI, Kim SG, Kim SM, Kim EH, Park SJ, Yu KM, et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. *Cell Host Microbe* 2020;27(5):704-9.e2. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.023>
59. Perlman S, Dandekar AA. Immunopathogenesis of coronavirus infections: implications for SARS. *Nat Rev Immunol* 2005;5(12):917-27. <http://dx.doi.org/10.1038/nri1732>
60. Rivera-Hernandez T, Carnathan DG, Moyle PM, Toth I, West NP, Young PR, et al. The contribution of non-human primate models to the development of human vaccines. *Discov Med* 2014;18(101):313-22.
61. Rockx B, Kuiken T, Herfst S, Bestebroer T, Lamers MM, Oude Munnink BB, et al. Comparative pathogenesis of COVID-19, MERS, and SARS in a nonhuman primate model. *Science* 2020;368(6494):1012-5. <http://dx.doi.org/10.1126/science.abb7314>
62. Muñoz-Fontela C, Dowling WE, Funnell SG, Gsell PS, Riveros-Balta AX, Albrecht RA, et al. Animal models for COVID-19. *Nature* 2020;586(7830):509-15. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2787-6>
63. Feldstein LR, Rose EB, Horwitz SM, Collins JP, Newhams MM, Son MBF, et al. Multisystem inflammatory syndrome in U.S. children and adolescents. *N Engl J Med* 2020;383(4):334-46. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2021680>

64. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, Uhl S, Hoagland D, Møller R, et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Cell* 2020;181(5):1036-45 e9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.026>
65. Bruhns P. Properties of mouse and human IgG receptors and their contribution to disease models. *Blood* 2012;119(24):5640-9.
<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2012-01-380121>
66. Crowley AR, Ackerman ME. Mind the gap: how interspecies variability in IgG and its receptors may complicate comparisons of human and non-human primate effector function. *Front Immunol* 2019;10:697.
<http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2019.00697>
67. Heijmans CM, de Groot NG, Bontrop RE. Comparative genetics of the major histocompatibility complex in humans and nonhuman primates. *Int J Immunogenet* 2020;47(3):243-60.
<http://dx.doi.org/10.1111/iji.12490>
68. Smits SL, de Lang A, van den Brand JM, Leijten LM, van IWF, Eijkemans MJ, et al. Exacerbated innate host response to SARS-CoV in aged non-human primates. *PLoS Pathog* 2010;6(2):e1000756.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1000756>
69. Yu P, Qi F, Xu Y, Li F, Liu P, Liu J, et al. Age-related rhesus macaque models of COVID-19. *Animal Model Exp Med* 2020;3(1):93-7.
<http://dx.doi.org/10.1002/ame2.12108>
70. Zhai X, Sun J, Yan Z, Zhang J, Zhao J, Zhao Z, et al. Comparison of SARS-CoV-2 spike protein binding to ACE2 receptors from human, pets, farm animals, and putative intermediate hosts. *J Virol* 2020.
<http://dx.doi.org/10.1128/JVI.00831-20>
71. Li H, Limenitakis JP, Greiff V, Yilmaz B, Schären O, Urbaniak C, et al. Mucosal or systemic microbiota exposures shape the B cell repertoire. *Nature* 2020;584(7820):274-8.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2564-6>
72. Lynn DJ, Pulendran B. The potential of the microbiota to influence vaccine responses. *J Leukoc Biol* 2018;103(2):225-31.
<http://dx.doi.org/10.1189/jlb.5MR0617-216R>
73. Bauer DC, Tay AP, Wilson LO, Reti D, Hosking C, McAuley AJ, et al. Supporting pandemic response using genomics and bioinformatics: a case study on the emergent SARS-CoV-2 outbreak. *Transbound Emerg Dis* 2020;67(4):1453-62.
<http://dx.doi.org/10.1111/tbed.13588>
74. Tseng CT, Huang C, Newman P, Wang N, Narayanan K, Watts DM, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of mice transgenic for the human Angiotensin-converting enzyme 2 virus receptor. *J Virol* 2007;81(3):1162-73.
<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.01702-06>
75. Bao L, Deng W, Huang B, Gao H, Liu J, Ren L, et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. *Nature* 2020;583(7818):830-3.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2312-y>
76. Sun S-H, Chen Q, Gu H-J, Yang G, Wang Y-X, Huang X-Y, et al. A mouse model of SARS-CoV-2 infection and pathogenesis. *Cell Host Microbe* 2020;28(1):124-33.e4.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2020.05.020>
77. Koo GC, Hasan A, O'Reilly RJ. Use of humanized severe combined immunodeficient mice for human vaccine development. *Expert Rev Vaccines* 2009;8(1):113-20.
<http://dx.doi.org/10.1586/14760584.8.1.113>
78. Pujhari S, Rasgon JL. Mice with humanized-lungs and immune system: an idealized model for COVID-19 and other respiratory illness. *Virulence* 2020;11(1):486-8.
<http://dx.doi.org/10.1080/21505594.2020.1763637>
79. Imai M, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Loeber S, Halfmann PJ, Nakajima N, et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020;117(28):16587-95.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.2009799117>
80. Sia SF, Yan LM, Chin AW, Fung K, Choy KT, Wong AY, et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature* 2020;583(7818):834-8.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2342-5>

81. See RH, Petric M, Lawrence DJ, Mok CP, Rowe T, Zitzow LA, et al. Severe acute respiratory syndrome vaccine efficacy in ferrets: whole killed virus and adenovirus-vectored vaccines. *J Gen Virol* 2008;89(Pt 9):2136-46.
<http://dx.doi.org/10.1099/vir.0.2008/001891-0>
82. Chandrashekar A, Liu J, Martinot AJ, McMahan K, Mercado NB, Peter L, et al. SARS-CoV-2 infection protects against rechallenge in rhesus macaques. *Science* 2020;369(6505):812-7.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.abc4776>
83. Deng W, Bao L, Liu J, Xiao C, Liu J, Xue J, et al. Primary exposure to SARS-CoV-2 protects against reinfection in rhesus macaques. *Science* 2020;369(6505):818-23.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.abc5343>
84. Munster VJ, Feldmann F, Williamson BN, van Doremalen N, Pérez-Pérez L, Schulz J, et al. Respiratory disease in rhesus macaques inoculated with SARS-CoV-2. *Nature* 2020;585(7824):268-72.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2324-7>
85. Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature* 2020;586(7830):516-27.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2798-3>
86. Gao Q, Bao L, Mao H, Wang L, Xu K, Yang M, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science* 2020;369(6499):77-81.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.abc1932>
87. Wang H, Zhang Y, Huang B, Deng W, Quan Y, Wang W, et al. Development of an inactivated vaccine candidate, BBIBP-CorV, with potent protection against SARS-CoV-2. *Cell* 2020;182(3):713-21 e9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.008>
88. van Doremalen N, Lambe T, Spencer A, Belij-Rammerstorfer S, Purushotham JN, Port JR, et al. ChAdOx1 nCoV-19 vaccine prevents SARS-CoV-2 pneumonia in rhesus macaques. *Nature* 2020;586(7830):578-82.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2608-y>
89. Mercado NB, Zahn R, Wegmann F, Loos C, Chandrashekar A, Yu J, et al. Single-shot Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 in rhesus macaques. *Nature* 2020;586(7830):583-8.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2607-z>
90. Corbett KS, Flynn B, Foulds KE, Francica JR, Boyoglu-Barnum S, Werner AP, et al. Evaluation of the mRNA-1273 vaccine against SARS-CoV-2 in nonhuman primates. *N Engl J Med* 2020;383(16):1544-55.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2024671>
91. Guebre-Xabier M, Patel N, Tian JH, Zhou B, Maciejewski S, Lam K, et al. NVX-CoV2373 vaccine protects cynomolgus macaque upper and lower airways against SARS-CoV-2 challenge. *Vaccine* 2020.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.10.064>
92. Vogel AB, Kanevsky I, Che Y, Swanson KA, Muik A, Vormehr M, et al. A prefusion SARS-CoV-2 spike RNA vaccine is highly immunogenic and prevents lung infection in non-human primates [preprint]. *bioRxiv* 2020.
<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.09.08.280818>
93. Newton AH, Cardani A, Braciale TJ. The host immune response in respiratory virus infection: balancing virus clearance and immunopathology. *Semin Immunopathol* 2016;38(4):471-82.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00281-016-0558-0>
94. Sato S, Kiyono H. The mucosal immune system of the respiratory tract. *Curr Opin Virol* 2012;2(3):225-32.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2012.03.009>
95. Sariol A, Perlman S. Lessons for COVID-19 immunity from other coronavirus infections. *Immunity* 2020;53(2):248-63.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2020.07.005>
96. Ziegler CG, Allon SJ, Nyquist SK, Mbanjo IM, Miao VN, Tzouanas CN, et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell* 2020;181(5):1016-35.e19.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.035>
97. Ni W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care* 2020;24(1):422.
<http://dx.doi.org/10.1186/s13054-020-03120-0>
98. Vieira C, Nery L, Martins L, Jabour L, Dias R, Simões ESAC. Downregulation of membrane-bound angiotensin converting

enzyme 2 (ACE2) receptor has a pivotal role in COVID-19 immunopathology. *Curr Drug Targets* 2020.

<http://dx.doi.org/10.2174/1389450121666201020154033>

99. Pedersen SF, Ho YC. SARS-CoV-2: a storm is raging. *J Clin Invest* 2020;130(5):2202-5.

<http://dx.doi.org/10.1172/jci137647>

100. Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med* 2020;8(4):420-2.

[http://dx.doi.org/10.1016/s2213-2600\(20\)30076-x](http://dx.doi.org/10.1016/s2213-2600(20)30076-x)

101. Cavanagh D, Elus MM, Cook JK. Relationship between sequence variation in the S1 spike protein of infectious bronchitis virus and the extent of cross-protection in vivo. *Avian Pathol* 1997;26(1):63-74.

<http://dx.doi.org/10.1080/03079459708419194>

102. Collisson EW, Pei J, Dzielawa J, Seo SH. Cytotoxic T lymphocytes are critical in the control of infectious bronchitis virus in poultry. *Dev Comp Immunol* 2000;24(2-3):187-200.

[http://dx.doi.org/10.1016/s0145-305x\(99\)00072-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0145-305x(99)00072-5)

103. Wesley RD, Woods RD. Induction of protective immunity against transmissible gastroenteritis virus after exposure of neonatal pigs to porcine respiratory coronavirus. *Am J Vet Res* 1996;57(2):157-62.

104. Callebaut P, Cox E, Pensaert M, van Deun K. Induction of milk IgA antibodies by porcine respiratory coronavirus infection. *Adv Exp Med Biol* 1990;276:421-8.

http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4684-5823-7_58

105. Heckert RA, Saif LJ, Hoblet KH, Agnes AG. A longitudinal study of bovine coronavirus enteric and respiratory infections in dairy calves in two herds in Ohio. *Vet Microbiol* 1990;22(2-3):187-201.

[http://dx.doi.org/10.1016/0378-1135\(90\)90106-6](http://dx.doi.org/10.1016/0378-1135(90)90106-6)

106. Rottier PJ, Nakamura K, Schellen P, Volders H, Haijema BJ. Acquisition of macrophage tropism during the pathogenesis of feline infectious peritonitis is determined by

mutations in the feline coronavirus spike protein. *J Virol* 2005;79(22):14122-30.

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.79.22.14122-14130.2005>

107. Kim KD, Zhao J, Auh S, Yang X, Du P, Tang H, et al. Adaptive immune cells temper initial innate responses. *Nat Med* 2007;13(10):1248-52.

<http://dx.doi.org/10.1038/nm1633>

108. McIntosh K, Perlman S. Coronaviruses, including severe acute respiratory syndrome (SARS) and Middle East respiratory syndrome (MERS). Dans: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, ed. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. Ninth edition. Philadelphia: Elsevier; 2020. p. 2072–80.e2.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7151770/pdf/main.pdf>

109. Macnaughton MR. Occurrence and frequency of coronavirus infections in humans as determined by enzyme-linked immunosorbent assay. *Infect Immun* 1982;38(2):419-23.

<http://dx.doi.org/10.1128/iai.38.2.419-423.1982>

110. Reed SE. The behaviour of recent isolates of human respiratory coronavirus in vitro and in volunteers: evidence of heterogeneity among 229E-related strains. *J Med Virol* 1984;13(2):179-92.

<http://dx.doi.org/10.1002/jmv.1890130208>

111. Severance EG, Bossis I, Dickerson FB, Stallings CR, Orioni AE, Sullens A, et al. Development of a nucleocapsid-based human coronavirus immunoassay and estimates of individuals exposed to coronavirus in a U.S. metropolitan population. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15(12):1805-10.

<http://dx.doi.org/10.1128/cvi.00124-08>

112. Hendley JO, Fishburne HB, Gwaltney JM. Coronavirus infections in working adults. Eight-year study with 229 E and OC 43. *Am Rev Respir Dis* 1972;105(5):805-11.

<http://dx.doi.org/10.1164/arrd.1972.105.5.805>

113. Monto AS, Lim SK. The Tecumseh study of respiratory illness. VI. Frequency of and relationship between outbreaks of coronavirus infection. *J Infect Dis* 1974;129(3):271-6.

<http://dx.doi.org/10.1093/infdis/129.3.271>

114. Schmidt OW, Allan ID, Cooney MK, Foy HM, Fox JP. Rises in titers of antibody to human coronaviruses OC43 and 229E in Seattle families during 1975-1979. *Am J Epidemiol* 1986;123(5):862-8.
<http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a114315>
115. Shaman J, Galanti M. Direct measurement of rates of asymptomatic infection and clinical care-seeking for seasonal coronavirus [preprint]. medRxiv 2020.
<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.01.30.20019612>
116. Monto AS. Medical reviews. *Coronaviruses*. Yale J Biol Med 1974;47(4):234-51.
117. Callow KA, Parry HF, Sergeant M, Tyrrell DA. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol Infect* 1990;105(2):435-46.
<http://dx.doi.org/10.1017/s0950268800048019>
118. Pyrc K, Dijkman R, Deng L, Jebbink MF, Ross HA, Berkhout B, et al. Mosaic structure of human coronavirus NL63, one thousand years of evolution. *J Mol Biol* 2006;364(5):964-73.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2006.09.074>
119. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MD, Yang B, Katzelnick LC, Rattigan SM, et al. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. *Nat Commun* 2020;11(1):4704.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-18450-4>
120. Jiang S, Hillyer C, Du L. Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. *Trends Immunol* 2020;41(5):355-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2020.03.007>
121. Janice Oh HL, Ken-En Gan S, Bertoletti A, Tan YJ. Understanding the T cell immune response in SARS coronavirus infection. *Emerg Microbes Infect* 2012;1(9):e23.
<http://dx.doi.org/10.1038/emi.2012.26>
122. Zhang L, Zhang F, Yu W, He T, Yu J, Yi CE, et al. Antibody responses against SARS coronavirus are correlated with disease outcome of infected individuals. *J Med Virol* 2006;78(1):1-8.
<http://dx.doi.org/10.1002/jmv.20499>
123. Watanabe Y, Berndsen ZT, Raghvani J, Seabright GE, Allen JD, Pybus OG, et al. Vulnerabilities in coronavirus glycan shields despite extensive glycosylation. *Nat Commun* 2020;11(1):2688.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-16567-0>
124. Guan Y, Zheng BJ, He YQ, Liu XL, Zhuang ZX, Cheung CL, et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science* 2003;302(5643):276-8.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1087139>
125. Wu LP, Wang NC, Chang YH, Tian XY, Na DY, Zhang LY, et al. Duration of antibody responses after severe acute respiratory syndrome. *Emerg Infect Dis* 2007;13(10):1562-4.
<http://dx.doi.org/10.3201/eid1310.070576>
126. Liu W, Fontanet A, Zhang PH, Zhan L, Xin ZT, Baril L, et al. Two-year prospective study of the humoral immune response of patients with severe acute respiratory syndrome. *J Infect Dis* 2006;193(6):792-5.
<http://dx.doi.org/10.1086/500469>
127. Hsueh PR, Huang LM, Chen PJ, Kao CL, Yang PC. Chronological evolution of IgM, IgA, IgG and neutralisation antibodies after infection with SARS-associated coronavirus. *Clin Microbiol Infect* 2004;10(12):1062-6.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.01009.x>
128. Cao WC, Liu W, Zhang PH, Zhang F, Richardus JH. Disappearance of antibodies to SARS-associated coronavirus after recovery [letter]. *N Engl J Med* 2007;357(11):1162-3.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMc070348>
129. Guo X, Guo Z, Duan C, Chen Z, Wang G, Lu Y, et al. Long-term persistence of IgG antibodies in SARS-CoV infected healthcare workers [preprint]. medRxiv 2020.
<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.02.12.20021386>
130. Buchholz UJ, Bukreyev A, Yang L, Lamirande EW, Murphy BR, Subbarao K, et al. Contributions of the structural proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus to protective immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(26):9804-9.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0403492101>

131. Zhong X, Yang H, Guo ZF, Sin WY, Chen W, Xu J, et al. B-cell responses in patients who have recovered from severe acute respiratory syndrome target a dominant site in the S2 domain of the surface spike glycoprotein. *J Virol* 2005;79(6):3401-8.
<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.79.6.3401-3408.2005>
132. Zhu Z, Chakraborti S, He Y, Roberts A, Sheahan T, Xiao X, et al. Potent cross-reactive neutralization of SARS coronavirus isolates by human monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104(29):12123-8.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0701000104>
133. Rockx B, Corti D, Donaldson E, Sheahan T, Stadler K, Lanzavecchia A, et al. Structural basis for potent cross-neutralizing human monoclonal antibody protection against lethal human and zoonotic severe acute respiratory syndrome coronavirus challenge. *J Virol* 2008;82(7):3220-35.
<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.02377-07>
134. Sui J, Li W, Murakami A, Tamin A, Matthews LJ, Wong SK, et al. Potent neutralization of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus by a human mAb to S1 protein that blocks receptor association. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(8):2536-41.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0307140101>
135. Tian X, Li C, Huang A, Xia S, Lu S, Shi Z, et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerg Microbes Infect* 2020;9(1):382-5.
<http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2020.1729069>
136. He Y, Li J, Li W, Lustigman S, Farzan M, Jiang S. Cross-neutralization of human and palm civet severe acute respiratory syndrome coronaviruses by antibodies targeting the receptor-binding domain of spike protein. *J Immunol* 2006;176(10):6085-92.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.176.10.6085>
137. Corman VM, Albarak AM, Omrani AS, Albarak MM, Farah ME, Almasri M, et al. Viral shedding and antibody response in 37 patients with middle east respiratory syndrome coronavirus infection. *Clin Infect Dis* 2016;62(4):477-83.
<http://dx.doi.org/10.1093/cid/civ951>
138. Park WB, Perera RA, Choe PG, Lau EH, Choi SJ, Chun JY, et al. Kinetics of serologic responses to MERS coronavirus infection in humans, South Korea. *Emerg Infect Dis* 2015;21(12):2186-9.
<http://dx.doi.org/10.3201/eid2112.151421>
139. Drosten C, Meyer B, Müller MA, Corman VM, Al-Masri M, Hossain R, et al. Transmission of MERS-coronavirus in household contacts. *N Engl J Med* 2014;371(9):828-35.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1405858>
140. Zhao J, Alshukairi AN, Baharoon SA, Ahmed WA, Bokhari AA, Nehdi AM, et al. Recovery from the Middle East respiratory syndrome is associated with antibody and T-cell responses. *Sci Immunol* 2017;2(14).
<http://dx.doi.org/10.1126/sciimmunol.aan5393>
141. Corti D, Zhao J, Pedotti M, Simonelli L, Agnihotram S, Fett C, et al. Prophylactic and postexposure efficacy of a potent human monoclonal antibody against MERS coronavirus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112(33):10473-8.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1510199112>
142. Liu WJ, Zhao M, Liu K, Xu K, Wong G, Tan W, et al. T-cell immunity of SARS-CoV: Implications for vaccine development against MERS-CoV. *Antiviral Res* 2017;137:82-92.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.11.006>
143. Zhao J, Zhao J, Perlman S. T cell responses are required for protection from clinical disease and for virus clearance in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected mice. *J Virol* 2010;84(18):9318-25.
<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.01049-10>
144. Li CK, Wu H, Yan H, Ma S, Wang L, Zhang M, et al. T cell responses to whole SARS coronavirus in humans. *J Immunol* 2008;181(8):5490-500.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.181.8.5490>
145. Page C, Goicochea L, Matthews K, Zhang Y, Klover P, Holtzman MJ, et al. Induction of alternatively activated macrophages enhances pathogenesis during severe acute respiratory

syndrome coronavirus infection. *J Virol* 2012;86(24):13334-49.

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.01689-12>

146. Ng OW, Chia A, Tan AT, Jadi RS, Leong HN, Bertoletti A, et al. Memory T cell responses targeting the SARS coronavirus persist up to 11 years post-infection. *Vaccine* 2016;34(17):2008-14.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.02.063>

147. Fan YY, Huang ZT, Li L, Wu MH, Yu T, Koup RA, et al. Characterization of SARS-CoV-specific memory T cells from recovered individuals 4 years after infection. *Arch Virol* 2009;154(7):1093-9.

<http://dx.doi.org/10.1007/s00705-009-0409-6>

148. Oh HL, Chia A, Chang CX, Leong HN, Ling KL, Grotenbreg GM, et al. Engineering T cells specific for a dominant severe acute respiratory syndrome coronavirus CD8 T cell epitope. *J Virol* 2011;85(20):10464-71.

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.05039-11>

149. Shin HS, Kim Y, Kim G, Lee JY, Jeong I, Joh JS, et al. Immune responses to Middle East respiratory syndrome coronavirus during the acute and convalescent phases of human infection. *Clin Infect Dis* 2019;68(6):984-92.

<http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciy595>

150. Zhao J, Li K, Wohlford-Lenane C, Agnihotram SS, Fett C, Zhao J, et al. Rapid generation of a mouse model for Middle East respiratory syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111(13):4970-5.

<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1323279111>

151. Coleman CM, Sisk JM, Halasz G, Zhong J, Beck SE, Matthews KL, et al. CD8+ T cells and macrophages regulate pathogenesis in a mouse model of Middle East respiratory syndrome. *J Virol* 2017;91(1).

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.01825-16>

152. Jaume M, Yip MS, Cheung CY, Leung HL, Li PH, Kien F, et al. Anti-severe acute respiratory syndrome coronavirus spike antibodies trigger infection of human immune cells via a pH- and cysteine protease-independent FcγR pathway. *J Virol* 2011;85(20):10582-97.

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.00671-11>

153. Wang SF, Tseng SP, Yen CH, Yang JY, Tsao CH, Shen CW, et al. Antibody-dependent

SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2014;451(2):208-14.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.07.090>

154. Yip MS, Leung NH, Cheung CY, Li PH, Lee HH, Daëron M, et al. Antibody-dependent infection of human macrophages by severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Virol J* 2014;11:82.

<http://dx.doi.org/10.1186/1743-422x-11-82>

155. Liu L, Wei Q, Lin Q, Fang J, Wang H, Kwok H, et al. Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. *JCI Insight* 2019;4(4).

<http://dx.doi.org/10.1172/jci.insight.123158>

156. Rowe T, Gao G, Hogan RJ, Crystal RG, Voss TG, Grant RL, et al. Macaque model for severe acute respiratory syndrome. *J Virol* 2004;78(20):11401-4.

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.78.20.11401-11404.2004>

157. Tseng CT, Sbrana E, Iwata-Yoshikawa N, Newman PC, Garron T, Atmar RL, et al. Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus. *PLoS ONE* 2012;7(4):e35421.

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0035421>

158. Deng Y, Lan J, Bao L, Huang B, Ye F, Chen Y, et al. Enhanced protection in mice induced by immunization with inactivated whole viruses compare to spike protein of middle east respiratory syndrome coronavirus. *Emerg Microbes Infect* 2018;7(1):60.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41426-018-0056-7>

159. Yasui F, Kai C, Kitabatake M, Inoue S, Yoneda M, Yokochi S, et al. Prior immunization with severe acute respiratory syndrome (SARS)-associated coronavirus (SARS-CoV) nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV. *J Immunol* 2008;181(9):6337-48.

<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.181.9.6337>

160. Honda-Okubo Y, Barnard D, Ong CH, Peng BH, Tseng CT, Petrovsky N. Severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus vaccines formulated with delta inulin adjuvants provide enhanced protection while ameliorating lung eosinophilic

immunopathology. *J Virol* 2015;89(6):2995-3007.

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.02980-14>

161. Agrawal AS, Tao X, Algaissi A, Garron T, Narayanan K, Peng BH, et al. Immunization with inactivated Middle East Respiratory Syndrome coronavirus vaccine leads to lung immunopathology on challenge with live virus. *Hum Vaccin Immunother* 2016;12(9):2351-6.

<http://dx.doi.org/10.1080/21645515.2016.1177688>

162. Hotez PJ, Corry DB, Bottazzi ME. COVID-19 vaccine design: the Janus face of immune enhancement. *Nat Rev Immunol* 2020;20(6):347-8.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-0323-4>

163. Hotez PJ, Bottazzi ME, Corry DB. The potential role of Th17 immune responses in coronavirus immunopathology and vaccine-induced immune enhancement. *Microbes Infect* 2020;22(4-5):165-7.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2020.04.005>

164. Lin JT, Zhang JS, Su N, Xu JG, Wang N, Chen JT, et al. Safety and immunogenicity from a phase I trial of inactivated severe acute respiratory syndrome coronavirus vaccine. *Antivir Ther* 2007;12(7):1107-13.

165. Martin JE, Louder MK, Holman LA, Gordon IJ, Enama ME, Larkin BD, et al. A SARS DNA vaccine induces neutralizing antibody and cellular immune responses in healthy adults in a Phase I clinical trial. *Vaccine* 2008;26(50):6338-43.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2008.09.026>

166. Modjarrad K, Roberts CC, Mills KT, Castellano AR, Paolino K, Muthumani K, et al. Safety and immunogenicity of an anti-Middle East respiratory syndrome coronavirus DNA vaccine: a phase 1, open-label, single-arm, dose-escalation trial. *Lancet Infect Dis* 2019;19(9):1013-22.

[http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(19\)30266-x](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(19)30266-x)

167. Koch T, Dahlke C, Fathi A, Kupke A, Krähling V, Okba NM, et al. Safety and immunogenicity of a modified vaccinia virus Ankara vector vaccine candidate for Middle East respiratory syndrome: an open-label, phase 1 trial. *Lancet Infect Dis* 2020;20(7):827-38.

[http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30248-6](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30248-6)

168. Li JY, Liao CH, Wang Q, Tan YJ, Luo R, Qiu Y, et al. The ORF6, ORF8 and nucleocapsid proteins of SARS-CoV-2 inhibit type I interferon signaling pathway. *Virus Res* 2020;286:198074.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198074>

169. Zhou R, To KK, Wong YC, Liu L, Zhou B, Li X, et al. Acute SARS-CoV-2 Infection Impairs Dendritic Cell and T Cell Responses. *Immunity* 2020;53(4):864-77 e5.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2020.07.026>

170. Kaneko N, Kuo HH, Boucau J, Farmer JR, Allard-Chamard H, Mahajan VS, et al. Loss of Bcl-6-expressing T follicular helper cells and germinal centers in COVID-19. *Cell* 2020;183(1):143-57 e13.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.025>

171. To KK, Tsang OT, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* 2020;20(5):565-74.

[http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30196-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30196-1)

172. Bryan A, Pepper G, Wener MH, Fink SL, Morishima C, Chaudhary A, et al. Performance characteristics of the Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG assay and seroprevalence in Boise, Idaho. *J Clin Microbiol* 2020;58(8).

<http://dx.doi.org/10.1128/jcm.00941-20>

173. Jin Y, Wang M, Zuo Z, Fan C, Ye F, Cai Z, et al. Diagnostic value and dynamic variance of serum antibody in coronavirus disease 2019. *Int J Infect Dis* 2020;94:49-52.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.065>

174. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis* 2020;71(15):778-85.

<http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa310>

175. Okba NM, Müller MA, Li W, Wang C, GeurtsvanKessel CH, Corman VM, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific antibody responses in coronavirus

disease 2019 patients. *Emerg Infect Dis* 2020;26(7):1478-88.

<http://dx.doi.org/10.3201/eid2607.200841>

176. Grzelak L, Temmam S, Planchais C, Demeret C, Huon C, Guivel F, et al. SARS-CoV-2 serological analysis of COVID-19 hospitalized patients, pauci-symptomatic individuals and blood donors [preprint]. medRxiv 2020.

<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.04.21.20068858>

177. Amanat F, Stadlbauer D, Strohmeier S, Nguyen TH, Chromikova V, McMahon M, et al. A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nat Med* 2020;26(7):1033-6.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-0913-5>

178. Wu F, Wang A, Liu M, Wang Q, Chen J, Xia S, et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications [preprint]. medRxiv 2020.

<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365>

179. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis* 2020:ciaa344.

<http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa344>

180. Perera RA, Mok CK, Tsang OT, Lv H, Ko RL, Wu NC, et al. Serological assays for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), March 2020. *Euro Surveill* 2020;25(16):2000421.

<http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.Es.2020.25.16.2000421>

181. Dahlke C, Heidepriem J, Kobbe R, Santer R, Koch T, Fathi A, et al. Distinct early IgA profile may determine severity of COVID-19 symptoms: an immunological case series [preprint]. medRxiv 2020.

<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.04.14.20059733>

182. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 2020;581(7809):465-9.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>

183. Li Z, Yi Y, Luo X, Xiong N, Liu Y, Li S, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol* 2020.

<http://dx.doi.org/10.1002/jmv.25727>

184. Whitman JD, Hiatt J, Mowery CT, Shy BR, Yu R, Yamamoto TN, et al. Test performance evaluation of SARS-CoV-2 serological assays [preprint]. medRxiv 2020.

<http://dx.doi.org/10.1101/2020.04.25.20074856>

185. Poland GA, Ovsyannikova IG, Kennedy RB. SARS-CoV-2 immunity: review and applications to phase 3 vaccine candidates. *Lancet* 2020.

[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)32137-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(20)32137-1)

186. Padoan A, Sciacovelli L, Basso D, Negrini D, Zuin S, Cosma C, et al. IgA-Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: a longitudinal study. *Clin Chim Acta* 2020;507:164-6.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cca.2020.04.026>

187. Sterlin D, Mathian A, Miyara M, Mohr A, Anna F, Claer L, et al. IgA dominates the early neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 [preprint]. medRxiv 2020.

<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.06.10.20126532>

188. Wong SK, Li W, Moore MJ, Choe H, Farzan M. A 193-amino acid fragment of the SARS coronavirus S protein efficiently binds angiotensin-converting enzyme 2. *J Biol Chem* 2004;279(5):3197-201.

<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.C300520200>

189. Tai W, He L, Zhang X, Pu J, Voronin D, Jiang S, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol* 2020;17(6):613-20.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41423-020-0400-4>

190. Tan W, Lu Y, Zhang J, Wang J, Dan Y, Tan Z, et al. Viral kinetics and antibody responses in patients with COVID-19 [preprint]. medRxiv 2020.

191. Rydzynski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A, Hastie KM, Weiskopf D, et al. Antigen-specific adaptive immunity to

SARS-CoV-2 in acute COVID-19 and associations with age and disease severity. *Cell* 2020.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.038>

192. Ibarondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, Elliott J, Hofmann C, Hausner MA, et al. Rapid decay of anti-SARS-CoV-2 antibodies in persons with mild Covid-19 [letter]. *N Engl J Med* 2020;383(11):1085-7.

<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMc2025179>

193. Röltgen K, Wirz OF, Stevens BA, Powell AE, Hogan CA, Najeeb J, et al. SARS-CoV-2 antibody responses correlate with resolution of RNAemia but are short-lived in patients with mild illness [preprint]. medRxiv 2020.

<http://dx.doi.org/10.1101/2020.08.15.20175794>

194. Cervia C, Nilsson J, Zurbuchen Y, Valaperti A, Schreiner J, Wolfensberger A, et al. Systemic and mucosal antibody secretion specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19 [preprint]. bioRxiv 2020.

<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.05.21.108308>

195. Allie SR, Bradley JE, Mudunuru U, Schultz MD, Graf BA, Lund FE, et al. The establishment of resident memory B cells in the lung requires local antigen encounter. *Nat Immunol* 2019;20(1):97-108.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41590-018-0260-6>

196. van Braeckel-Budimir N, Harty JT. Influenza-induced lung T(rm): not all memories last forever. *Immunol Cell Biol* 2017;95(8):651-5.

<http://dx.doi.org/10.1038/icb.2017.32>

197. Chen Z, John Wherry E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol* 2020;20(9):529-36.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-0402-6>

198. Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, Yao X, Yin Z, Dong D, et al. Broad and strong memory CD4(+) and CD8(+) T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nat Immunol* 2020;21(11):1336-45.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41590-020-0782-6>

199. Le Bert N, Tan AT, Kunasegaran K, Tham CY, Hafezi M, Chia A, et al. SARS-CoV-2-specific T cell immunity in cases of COVID-19 and SARS, and uninfected controls. *Nature* 2020;584(7821):457-62.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2550-z>

200. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2016;14(8):523-34.

<http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81>

201. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin JB, Olsson A, et al. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. *Cell* 2020;183(1):158-68 e14.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.017>

202. Kissler SM, Tedijanto C, Goldstein E, Grad YH, Lipsitch M. Projecting the transmission dynamics of SARS-CoV-2 through the postpandemic period. *Science* 2020;368(6493):860-8.

<http://dx.doi.org/10.1126/science.abb5793>

203. Orlov M, Wander PL, Morrell ED, Mikacenic C, Wurfel MM. A case for targeting Th17 cells and IL-17A in SARS-CoV-2 infections. *J Immunol* 2020;205(4):892-8.

<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.2000554>

204. Tang Y, Liu J, Zhang D, Xu Z, Ji J, Wen C. Cytokine storm in COVID-19: the current evidence and treatment strategies. *Front Immunol* 2020;11:1708.

<http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2020.01708>

205. Ledford H. Coronavirus reinfections: three questions scientists are asking. *Nature* 2020;585(7824):168-9.

<http://dx.doi.org/10.1038/d41586-020-02506-y>

206. Duggan NM, Ludy SM, Shannon BC, Reisner AT, Wilcox SR. Is novel coronavirus 2019 reinfection possible? Interpreting dynamic SARS-CoV-2 test results through a case report. *Am J Emerg Med* 2020.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajem.2020.06.079>

207. Kiyuka PK, Agoti CN, Munywoki PK, Njeru R, Bett A, Otieno JR, et al. Human coronavirus NL63 molecular epidemiology and evolutionary patterns in rural coastal Kenya. *J Infect Dis* 2018;217(11):1728-39.

<http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jiy098>

208. To KK, Hung IF, Ip JD, Chu AW, Chan WM, Tam AR, et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2

strain confirmed by whole genome sequencing. *Clin Infect Dis* 2020.

<http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa1275>

209. Kim AY, Gandhi RT. Re-infection with SARS-CoV-2: what goes around may come back around. *Clin Infect Dis* 2020.

<http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa1541>

210. Tillett RL, Sevinsky JR, Hartley PD, Kerwin H, Crawford N, Gorzalski A, et al. Genomic evidence for reinfection with SARS-CoV-2: a case study. *Lancet Infect Dis* 2020.

[http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30764-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30764-7)

211. Larson D, Brodnyak SL, Voegtly LJ, Cer RZ, Glang LA, Malagon FJ, et al. A case of early reinfection with Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) [letter]. *Clin Infect Dis* 2020:ciaa1436.

212. Gupta V, Bhojar RC, Jain A, Srivastava S, Upadhyay R, Imran M, et al. Asymptomatic reinfection in two healthcare workers from India with genetically distinct SARS-CoV-2. *Clin Infect Dis* 2020.

<http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa1451>

213. van Elslande J, Vermeersch P, Vandervoort K, Wawina-Bokalanga T, Vanmechelen B, Wollants E, et al. Symptomatic SARS-CoV-2 reinfection by a phylogenetically distinct strain. *Clin Infect Dis* 2020.

<http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciaa1330>

214. Goldman JD, Wang K, Roltgen K, Nielsen SC, Roach JC, Naccache SN, et al. Reinfection with SARS-CoV-2 and Failure of Humoral Immunity: a case report. medRxiv 2020.

<http://dx.doi.org/10.1101/2020.09.22.20192443>

215. Nelde A, Bilich T, Heitmann JS, Maringer Y, Salih HR, Roerden M, et al. SARS-CoV-2-derived peptides define heterologous and COVID-19-induced T cell recognition. *Nat Immunol* 2020.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41590-020-00808-x>

216. Almazán F, DeDiego ML, Sola I, Zuñiga S, Nieto-Torres JL, Marquez-Jurado S, et al. Engineering a replication-competent, propagation-defective Middle East respiratory syndrome coronavirus as a vaccine candidate. *mBio* 2013;4(5):e00650-13.

<http://dx.doi.org/10.1128/mBio.00650-13>

217. Netland J, DeDiego ML, Zhao J, Fett C, Álvarez E, Nieto-Torres JL, et al. Immunization with an attenuated severe acute respiratory syndrome coronavirus deleted in E protein protects against lethal respiratory disease. *Virology* 2010;399(1):120-8.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2010.01.004>

218. Hou Y, Meulia T, Gao X, Saif LJ, Wang Q. Deletion of both the tyrosine-based endocytosis signal and the endoplasmic reticulum retrieval signal in the cytoplasmic tail of spike protein attenuates porcine epidemic diarrhea virus in pigs. *J Virol* 2019;93(2):e01758-18.

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.01758-18>

219. Jimenez-Guardeño JM, Regla-Nava JA, Nieto-Torres JL, DeDiego ML, Castaño-Rodríguez C, Fernandez-Delgado R, et al. Identification of the mechanisms causing reversion to virulence in an attenuated SARS-CoV for the design of a genetically stable vaccine. *PLoS Pathog* 2015;11(10):e1005215.

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1005215>

220. Tao Y, Shi M, Chommanard C, Queen K, Zhang J, Markotter W, et al. Surveillance of bat coronaviruses in Kenya identifies relatives of human coronaviruses NL63 and 229E and their recombination history. *J Virol* 2017;91(5).

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.01953-16>

221. Murdin AD, Barreto L, Plotkin S. Inactivated poliovirus vaccine: past and present experience. *Vaccine* 1996;14(8):735-46.

[http://dx.doi.org/10.1016/0264-410x\(95\)00211-i](http://dx.doi.org/10.1016/0264-410x(95)00211-i)

222. Vellozzi C, Burwen DR, Dobardzic A, Ball R, Walton K, Haber P. Safety of trivalent inactivated influenza vaccines in adults: background for pandemic influenza vaccine safety monitoring. *Vaccine* 2009;27(15):2114-20.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.01.125>

223. Tahir UI Qamar M, Saleem S, Ashfaq UA, Bari A, Anwar F, Alqahtani S. Epitope-based peptide vaccine design and target site depiction against Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus: an immune-informatics study. *J Transl Med* 2019;17(1):362.

<http://dx.doi.org/10.1186/s12967-019-2116-8>

224. Watanabe Y, Allen JD, Wrapp D, McLellan JS, Crispin M. Site-specific glycan analysis of

- the SARS-CoV-2 spike. *Science* 2020;369(6501):330-3.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.abb9983>
225. Lelièvre JD. Les vaccins de demain. *Rev Fr Lab* 2019;(512):52–63.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X\(19\)30258-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1773-035X(19)30258-8)
226. Chen J, Miao L, Li JM, Li YY, Zhu QY, Zhou CL, et al. Receptor-binding domain of SARS-Cov spike protein: soluble expression in *E. coli*, purification and functional characterization. *World J Gastroenterol* 2005;11(39):6159-64.
<http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v11.i39.6159>
227. Tian JH, Patel N, Haupt R, Zhou H, Weston S, Hammond H, et al. SARS-CoV-2 spike glycoprotein vaccine candidate NVX-CoV2373 elicits immunogenicity in baboons and protection in mice [preprint]. *bioRxiv* 2020.
<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.06.29.178509>
228. Donaldson B, Lateef Z, Walker GF, Young SL, Ward VK. Virus-like particle vaccines: immunology and formulation for clinical translation. *Expert Rev Vaccines* 2018;17(9):833-49.
<http://dx.doi.org/10.1080/14760584.2018.1516552>
229. Lu X, Chen Y, Bai B, Hu H, Tao L, Yang J, et al. Immune responses against severe acute respiratory syndrome coronavirus induced by virus-like particles in mice. *Immunology* 2007;122(4):496-502.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2007.02676.x>
230. Lokugamage KG, Yoshikawa-Iwata N, Ito N, Watts DM, Wyde PR, Wang N, et al. Chimeric coronavirus-like particles carrying severe acute respiratory syndrome coronavirus (SCoV) S protein protect mice against challenge with SCoV. *Vaccine* 2008;26(6):797-808.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.11.092>
231. Naskalska A, Dabrowska A, Nowak P, Szczepanski A, Jasik K, Milewska A, et al. Novel coronavirus-like particles targeting cells lining the respiratory tract. *PLoS ONE* 2018;13(9):e0203489.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0203489>
232. Medicago announces positive results in animal trials for its vaccine candidate against COVID-19 [En ligne] 2020.
<https://www.businesswire.com/news/home/20200514005745/en/Medicago-Announces-Positive-Results-in-Animal-Trials-for-Its-Vaccine-Candidate-Against-COVID-19>
233. Plotkin SA. Vaccines for epidemic infections and the role of CEPI. *Hum Vaccin Immunother* 2017;13(12):2755-62.
<http://dx.doi.org/10.1080/21645515.2017.1306615>
234. Volz A, Sutter G. Modified vaccinia virus Ankara: history, value in basic research, and current perspectives for vaccine development. *Adv Virus Res* 2017;97:187-243.
<http://dx.doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.07.001>
235. Mahnel H, Mayr A. [Experiences with immunization against orthopox viruses of humans and animals using vaccine strain MVA]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 1994;107(8):253-6.
236. Lévy Y, Lane C, Piot P, Beavogui AH, Kieh M, Leigh B, et al. Prevention of Ebola virus disease through vaccination: where we are in 2018. *Lancet* 2018;392(10149):787-90.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)31710-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(18)31710-0)
237. Gudmundsdotter L, Nilsson C, Brave A, Hejdeman B, Earl P, Moss B, et al. Recombinant Modified Vaccinia Ankara (MVA) effectively boosts DNA-primed HIV-specific immune responses in humans despite pre-existing vaccinia immunity. *Vaccine* 2009;27(33):4468-74.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.05.018>
238. Buchbinder SP, Mehrotra DV, Duerr A, Fitzgerald DW, Mogg R, Li D, et al. Efficacy assessment of a cell-mediated immunity HIV-1 vaccine (the Step Study): a double-blind, randomised, placebo-controlled, test-of-concept trial. *Lancet* 2008;372(9653):1881-93.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(08\)61591-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(08)61591-3)
239. Zhu FC, Wurie AH, Hou LH, Liang Q, Li YH, Russell JB, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine in healthy adults in Sierra Leone: a single-centre,

randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet* 2017;389(10069):621-8. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)32617-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(16)32617-4)

240. Zak DE, Andersen-Nissen E, Peterson ER, Sato A, Hamilton MK, Borgerding J, et al. Merck Ad5/HIV induces broad innate immune activation that predicts CD8⁺ T-cell responses but is attenuated by preexisting Ad5 immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109(50):E3503-12. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1208972109>

241. Mast TC, Kierstead L, Gupta SB, Nikas AA, Kallas EG, Novitsky V, et al. International epidemiology of human pre-existing adenovirus (Ad) type-5, type-6, type-26 and type-36 neutralizing antibodies: correlates of high Ad5 titers and implications for potential HIV vaccine trials. *Vaccine* 2010;28(4):950-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.10.145>

242. Tapia MD, Sow SO, Lyke KE, Haidara FC, Diallo F, Doumbia M, et al. Use of ChAd3-EBO-Z Ebola virus vaccine in Malian and US adults, and boosting of Malian adults with MVA-BN-Filo: a phase 1, single-blind, randomised trial, a phase 1b, open-label and double-blind, dose-escalation trial, and a nested, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Infect Dis* 2016;16(1):31-42. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(15\)00362-x](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(15)00362-x)

243. Organisation mondiale de la santé. Vaccin Ad26.ZEBOV/MVA-BN-Filo. *Relevé Epidémiol Hebdo* 2020;95(4):28-30.

244. Dicks MD, Spencer AJ, Edwards NJ, Wadell G, Bojang K, Gilbert SC, et al. A novel chimpanzee adenovirus vector with low human seroprevalence: improved systems for vector derivation and comparative immunogenicity. *PLoS ONE* 2012;7(7):e40385. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0040385>

245. Clarke DK, Hendry RM, Singh V, Rose JK, Seligman SJ, Klug B, et al. Live virus vaccines based on a vesicular stomatitis virus (VSV) backbone: Standardized template with key considerations for a risk/benefit assessment. *Vaccine* 2016;34(51):6597-609. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.06.071>

246. Henao-Restrepo AM, Camacho A, Longini IM, Watson CH, Edmunds WJ, Egger M, et al.

Efficacy and effectiveness of an rVSV-vectored vaccine in preventing Ebola virus disease: final results from the Guinea ring vaccination, open-label, cluster-randomised trial (Ebola Ça Suffit!). *Lancet* 2017;389(10068):505-18. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)32621-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(16)32621-6)

247. Feldmann H, Jones SM, Daddario-DiCaprio KM, Geisbert JB, Ströher U, Grolla A, et al. Effective post-exposure treatment of Ebola infection. *PLoS Pathog* 2007;3(1):e2. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.0030002>

248. Mok H, Cheng X, Xu Q, Zengel JR, Parhy B, Zhao J, et al. Evaluation of measles vaccine virus as a vector to deliver respiratory syncytial virus fusion protein or Epstein-Barr virus glycoprotein gp350. *Open Virol J* 2012;6:12-22. <http://dx.doi.org/10.2174/1874357901206010012>

249. Mühlebach MD. Vaccine platform recombinant measles virus. *Virus Genes* 2017;53(5):733-40. <http://dx.doi.org/10.1007/s11262-017-1486-3>

250. Gerke C, Frantz PN, Ramsauer K, Tangy F. Measles-vectored vaccine approaches against viral infections: a focus on Chikungunya. *Expert Rev Vaccines* 2019;18(4):393-403. <http://dx.doi.org/10.1080/14760584.2019.1562908>

251. Kutzler MA, Weiner DB. DNA vaccines: ready for prime time? *Nat Rev Genet* 2008;9(10):776-88. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg2432>

252. Lambricht L, Lopes A, Kos S, Sersa G, Pr at V, Vandermeulen G. Clinical potential of electroporation for gene therapy and DNA vaccine delivery. *Expert Opin Drug Deliv* 2016;13(2):295-310. <http://dx.doi.org/10.1517/17425247.2016.1121990>

253. Pollard C, De Koker S, Saelens X, Vanham G, Grooten J. Challenges and advances towards the rational design of mRNA vaccines. *Trends Mol Med* 2013;19(12):705-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmed.2013.09.002>

254. Kim D, Robertson JS, Excler JL, Condit RC, Fast PE, Gurwith M, et al. The Brighton

- Collaboration standardized template for collection of key information for benefit-risk assessment of nucleic acid (RNA and DNA) vaccines. *Vaccine* 2020;38(34):5556-61.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.06.017>
255. Sahin U, Karikó K, Türeci Ö. mRNA-based therapeutics--developing a new class of drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2014;13(10):759-80.
<http://dx.doi.org/10.1038/nrd4278>
256. Schnee M, Vogel AB, Voss D, Petsch B, Baumhof P, Kramps T, et al. An mRNA vaccine encoding rabies virus glycoprotein induces protection against lethal infection in mice and correlates of protection in adult and newborn pigs. *PLoS Negl Trop Dis* 2016;10(6):e0004746.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0004746>
257. Brito LA, Kommareddy S, Maione D, Uematsu Y, Giovani C, Berlanda Scorza F, et al. Self-amplifying mRNA vaccines. *Adv Genet* 2015;89:179-233.
<http://dx.doi.org/10.1016/bs.adgen.2014.10.005>
258. Chahal JS, Fang T, Woodham AW, Khan OF, Ling J, Anderson DG, et al. An RNA nanoparticle vaccine against Zika virus elicits antibody and CD8+ T cell responses in a mouse model. *Sci Rep* 2017;7(1):252.
<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-00193-w>
259. Pardi N, Hogan MJ, Pelc RS, Muramatsu H, Andersen H, DeMaso CR, et al. Zika virus protection by a single low-dose nucleoside-modified mRNA vaccination. *Nature* 2017;543(7644):248-51.
<http://dx.doi.org/10.1038/nature21428>
260. Bahl K, Senn JJ, Yuzhakov O, Bulychev A, Brito LA, Hassett KJ, et al. Preclinical and clinical demonstration of immunogenicity by mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses. *Mol Ther* 2017;25(6):1316-27.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.03.035>
261. Richner JM, Himansu S, Dowd KA, Butler SL, Salazar V, Fox JM, et al. Modified mRNA vaccines protect against Zika virus infection. *Cell* 2017;168(6):1114-25 e10.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.017>
262. Xu S, Yang K, Li R, Zhang L. mRNA Vaccine Era-Mechanisms, Drug Platform and Clinical Prospection. *Int J Mol Sci* 2020;21(18).
<http://dx.doi.org/10.3390/ijms21186582>
263. Kauffman KJ, Webber MJ, Anderson DG. Materials for non-viral intracellular delivery of messenger RNA therapeutics. *J Control Release* 2016;240:227-34.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.12.032>
264. Guan S, Rosenecker J. Nanotechnologies in delivery of mRNA therapeutics using nonviral vector-based delivery systems. *Gene Ther* 2017;24(3):133-43.
<http://dx.doi.org/10.1038/gt.2017.5>
265. Thess A, Grund S, Mui BL, Hope MJ, Baumhof P, Fotin-Mleczek M, et al. Sequence-engineered mRNA without chemical nucleoside modifications enables an effective protein therapy in large animals. *Mol Ther* 2015;23(9):1456-64.
<http://dx.doi.org/10.1038/mt.2015.103>
266. Karikó K, Muramatsu H, Ludwig J, Weissman D. Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA. *Nucleic Acids Res* 2011;39(21):e142.
<http://dx.doi.org/10.1093/nar/qkr695>
267. Pardi N, Hogan MJ, Porter FW, Weissman D. mRNA vaccines: a new era in vaccinology. *Nat Rev Drug Discov* 2018;17(4):261-79.
<http://dx.doi.org/10.1038/nrd.2017.243>
268. Iavarone C, O'Hagan D T, Yu D, Delahaye NF, Ulmer JB. Mechanism of action of mRNA-based vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2017;16(9):871-81.
<http://dx.doi.org/10.1080/14760584.2017.1355245>
269. Ulmer JB, Geall AJ. Recent innovations in mRNA vaccines. *Curr Opin Immunol* 2016;41:18-22.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.coi.2016.05.008>
270. Chahal JS, Khan OF, Cooper CL, McPartlan JS, Tsosie JK, Tilley LD, et al. Dendrimer-RNA nanoparticles generate protective immunity against lethal Ebola, H1N1 influenza, and *Toxoplasma gondii* challenges with a single dose. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113(29):E4133-42.

<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1600299113>

271. Alberer M, Gnad-Vogt U, Hong HS, Mehr KT, Backert L, Finak G, et al. Safety and immunogenicity of a mRNA rabies vaccine in healthy adults: an open-label, non-randomised, prospective, first-in-human phase 1 clinical trial. *Lancet* 2017;390(10101):1511-20.

[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)31665-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(17)31665-3)

272. Jeyanathan M, Afkhami S, Smaill F, Miller MS, Lichty BD, Xing Z. Immunological considerations for COVID-19 vaccine strategies. *Nat Rev Immunol* 2020;20(10):615-32.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-00434-6>

273. Funk CD, Laferrière C, Ardakani A. A snapshot of the global race for vaccines targeting SARS-CoV-2 and the COVID-19 pandemic. *Front Pharmacol* 2020;11:937.

<http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2020.00937>

274. Jeyanathan M, Yao Y, Afkhami S, Smaill F, Xing Z. New tuberculosis vaccine strategies: taking aim at un-natural immunity. *Trends Immunol* 2018;39(5):419-33.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2018.01.006>

275. Belyakov IM, Ahlers JD. What role does the route of immunization play in the generation of protective immunity against mucosal pathogens? *J Immunol* 2009;183(11):6883-92.

<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.0901466>

276. Seibert CW, Rahmat S, Krause JC, Eggink D, Albrecht RA, Goff PH, et al. Recombinant IgA is sufficient to prevent influenza virus transmission in guinea pigs. *J Virol* 2013;87(14):7793-804.

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.00979-13>

277. Lowen AC, Steel J, Mubareka S, Carnero E, García-Sastre A, Palese P. Blocking interhost transmission of influenza virus by vaccination in the guinea pig model. *J Virol* 2009;83(7):2803-18.

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.02424-08>

278. Tschernig T, Pabst R. Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) is not present in the normal adult lung but in different diseases. *Pathobiology* 2000;68(1):1-8.

<http://dx.doi.org/10.1159/000028109>

279. Moyron-Quiroz JE, Rangel-Moreno J, Kusser K, Hartson L, Sprague F, Goodrich S, et al. Role of inducible bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) in respiratory immunity. *Nat Med* 2004;10(9):927-34.

<http://dx.doi.org/10.1038/nm1091>

280. Szabo PA, Miron M, Farber DL. Location, location, location: tissue resident memory T cells in mice and humans. *Sci Immunol* 2019;4(34).

<http://dx.doi.org/10.1126/sciimmunol.aas9673>

281. Lycke N. Recent progress in mucosal vaccine development: potential and limitations. *Nat Rev Immunol* 2012;12(8):592-605.

<http://dx.doi.org/10.1038/nri3251>

282. Mudgal R, Nehul S, Tomar S. Prospects for mucosal vaccine: shutting the door on SARS-CoV-2. *Hum Vaccin Immunother* 2020:1-11.

<http://dx.doi.org/10.1080/21645515.2020.1805992>

283. Weiner HL, Friedman A, Miller A, Khoury SJ, al-Sabbagh A, Santos L, et al. Oral tolerance: immunologic mechanisms and treatment of animal and human organ-specific autoimmune diseases by oral administration of autoantigens. *Annu Rev Immunol* 1994;12:809-37.

<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.iv.12.040194.004113>

284. Mestecky J. The common mucosal immune system and current strategies for induction of immune responses in external secretions. *J Clin Immunol* 1987;7(4):265-76.

<http://dx.doi.org/10.1007/bf00915547>

285. Azizi A, Ghunaim H, Diaz-Mitoma F, Mestecky J. Mucosal HIV vaccines: a holy grail or a dud? *Vaccine* 2010;28(24):4015-26.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.04.018>

286. Kantele A, Häkkinen M, Moldoveanu Z, Lu A, Savilahti E, Alvarez RD, et al. Differences in immune responses induced by oral and rectal immunizations with *Salmonella typhi* Ty21a: evidence for compartmentalization within the common mucosal immune system in humans. *Infect Immun* 1998;66(12):5630-5.

<http://dx.doi.org/10.1128/iai.66.12.5630-5635.1998>

287. Czerkinsky C, Holmgren J. Mucosal delivery routes for optimal immunization: targeting immunity to the right tissues. *Curr Top Microbiol Immunol* 2012;354:1-18.
http://dx.doi.org/10.1007/82_2010_112
288. Miquel-Clopés A, Bentley EG, Stewart JP, Carding SR. Mucosal vaccines and technology. *Clin Exp Immunol* 2019;196(2):205-14.
<http://dx.doi.org/10.1111/cei.13285>
289. Hoft DF, Brusica V, Sakala IG. Optimizing vaccine development. *Cell Microbiol* 2011;13(7):934-42.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-5822.2011.01609.x>
290. Hirabayashi Y, Kurata H, Funato H, Nagamine T, Aizawa C, Tamura S, et al. Comparison of intranasal inoculation of influenza HA vaccine combined with cholera toxin B subunit with oral or parenteral vaccination. *Vaccine* 1990;8(3):243-8.
[http://dx.doi.org/10.1016/0264-410x\(90\)90053-0](http://dx.doi.org/10.1016/0264-410x(90)90053-0)
291. Bergquist C, Johansson EL, Lagergård T, Holmgren J, Rudin A. Intranasal vaccination of humans with recombinant cholera toxin B subunit induces systemic and local antibody responses in the upper respiratory tract and the vagina. *Infect Immun* 1997;65(7):2676-84.
<http://dx.doi.org/10.1128/iai.65.7.2676-2684.1997>
292. Durrani Z, McInerney TL, McLain L, Jones T, Bellaby T, Brennan FR, et al. Intranasal immunization with a plant virus expressing a peptide from HIV-1 gp41 stimulates better mucosal and systemic HIV-1-specific IgA and IgG than oral immunization. *J Immunol Methods* 1998;220(1-2):93-103.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0022-1759\(98\)00145-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0022-1759(98)00145-8)
293. Chhabra R, Forrester A, Lemiere S, Awad F, Chantrey J, Ganapathy K. Mucosal, cellular, and humoral immune responses induced by different live infectious bronchitis virus vaccination regimes and protection conferred against infectious bronchitis virus Q1 strain. *Clin Vaccine Immunol* 2015;22(9):1050-9.
<http://dx.doi.org/10.1128/cvi.00368-15>
294. Wang J, Huang L, Mou C, Zhang E, Wang Y, Cao Y, et al. Mucosal immune responses induced by oral administration recombinant *Bacillus subtilis* expressing the COE antigen of PEDV in newborn piglets. *Biosci Rep* 2019;39(3).
<http://dx.doi.org/10.1042/bsr20182028>
295. Diniz Lopes P, Okino CH, Fernando FS, Pavani C, Casagrande VM, Lopez RF, et al. Inactivated infectious bronchitis virus vaccine encapsulated in chitosan nanoparticles induces mucosal immune responses and effective protection against challenge. *Vaccine* 2018;36(19):2630-6.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.03.065>
296. Li E, Chi H, Huang P, Yan F, Zhang Y, Liu C, et al. A novel bacterium-like particle vaccine displaying the MERS-CoV receptor-binding domain induces specific mucosal and systemic immune responses in mice. *Viruses* 2019;11(9).
<http://dx.doi.org/10.3390/v11090799>
297. Ma C, Li Y, Wang L, Zhao G, Tao X, Tseng CT, et al. Intranasal vaccination with recombinant receptor-binding domain of MERS-CoV spike protein induces much stronger local mucosal immune responses than subcutaneous immunization: implication for designing novel mucosal MERS vaccines. *Vaccine* 2014;32(18):2100-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.02.004>
298. Lu B, Huang Y, Huang L, Li B, Zheng Z, Chen Z, et al. Effect of mucosal and systemic immunization with virus-like particles of severe acute respiratory syndrome coronavirus in mice. *Immunology* 2010;130(2):254-61.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2567.2010.03231.x>
299. Hassan AO, Kafai NM, Dmitriev IP, Fox JM, Smith BK, Harvey IB, et al. A single-dose intranasal ChAd vaccine protects upper and lower respiratory tracts against SARS-CoV-2. *Cell* 2020;183(1):169-84 e13.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2020.08.026>
300. Parlement européen, Conseil de l'Union européenne. Directive 2001/83/EC du Parlement européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain. *Journal Officiel des Communautés Européennes* 2001;28 novembre 2001:L 311/67-128.

301. Lurie N, Saville M, Hatchett R, Halton J. Developing Covid-19 vaccines at pandemic speed. *N Engl J Med* 2020;382(21):1969-73.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMp2005630>
302. Hotez PJ, Bottazzi ME. Developing a low-cost and accessible COVID-19 vaccine for global health. *PLoS Negl Trop Dis* 2020;14(7):e0008548.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0008548>
303. Ramon G. Sur la toxine et sur l'anatoxine diphtériques. *Ann Institut Pasteur* 1924;38:1-10.
304. Coffman RL, Sher A, Seder RA. Vaccine adjuvants: putting innate immunity to work. *Immunity* 2010;33(4):492-503.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2010.10.002>
305. Singh M, O'Hagan DT. Recent advances in vaccine adjuvants. *Pharm Res* 2002;19(6):715-28.
<http://dx.doi.org/10.1023/a:1016104910582>
306. Guy B. CIF vaccinologie 2011. Les adjuvants. Conférence enregistrée lors du DIU de vaccinologie le jeudi 31 mars. Hôpital d'instruction des armées du Val-de-Grâce - Ecole du Val-de-Grâce [En ligne] 2011.
https://www.canal-u.tv/video/canal_u_medicine/cif_vaccinologie_2011_les_adjuvants.7093
307. Shi S, Zhu H, Xia X, Liang Z, Ma X, Sun B. Vaccine adjuvants: understanding the structure and mechanism of adjuvant activity. *Vaccine* 2019;37(24):3167-78.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2019.04.055>
308. Burrell LS, Johnston CT, Schulze D, Klein J, White JL, Hem SL. Aluminium phosphate adjuvants prepared by precipitation at constant pH. Part II: physicochemical properties. *Vaccine* 2000;19(2-3):282-7.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x\(00\)00162-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x(00)00162-6)
309. Herbert WJ. The mode of action of mineral-oil emulsion adjuvants on antibody production in mice. *Immunology* 1968;14(3):301-18.
310. Kreuter J, Liehl E, Berg U, Soliva M, Speiser PP. Influence of hydrophobicity on the adjuvant effect of particulate polymeric adjuvants. *Vaccine* 1988;6(3):253-6.
[http://dx.doi.org/10.1016/0264-410x\(88\)90220-4](http://dx.doi.org/10.1016/0264-410x(88)90220-4)
311. Didierlaurent AM, Morel S, Lockman L, Giannini SL, Bisteau M, Carlsen H, et al. AS04, an aluminum salt- and TLR4 agonist-based adjuvant system, induces a transient localized innate immune response leading to enhanced adaptive immunity. *J Immunol* 2009;183(10):6186-97.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.0901474>
312. Gupta T, Gupta SK. Potential adjuvants for the development of a SARS-CoV-2 vaccine based on experimental results from similar coronaviruses. *Int Immunopharmacol* 2020;86.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106717>
313. Ghimire TR. The mechanisms of action of vaccines containing aluminum adjuvants: an in vitro vs in vivo paradigm. *SpringerPlus* 2015;4:181.
<http://dx.doi.org/10.1186/s40064-015-0972-0>
314. HogenEsch H. Mechanisms of stimulation of the immune response by aluminum adjuvants. *Vaccine* 2002;20(Suppl 3):S34-9.
[http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x\(02\)00169-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x(02)00169-x)
315. Ulanova M, Tarkowski A, Hahn-Zoric M, Hanson LA. The Common vaccine adjuvant aluminum hydroxide up-regulates accessory properties of human monocytes via an interleukin-4-dependent mechanism. *Infect Immun* 2001;69(2):1151-9.
<http://dx.doi.org/10.1128/iai.69.2.1151-1159.2001>
316. Oleszycka E, McCluskey S, Sharp FA, Muñoz-Wolf N, Hams E, Gorman AL, et al. The vaccine adjuvant alum promotes IL-10 production that suppresses Th1 responses. *Eur J Immunol* 2018;48(4):705-15.
<http://dx.doi.org/10.1002/eji.201747150>
317. Tomljenovic L, Shaw CA. Aluminum vaccine adjuvants: are they safe? *Curr Med Chem* 2011;18(17):2630-7.
<http://dx.doi.org/10.2174/092986711795933740>
318. Kool M, Soullié T, van Nimwegen M, Willart MA, Muskens F, Jung S, et al. Alum adjuvant boosts adaptive immunity by inducing uric acid and activating inflammatory dendritic cells. *J Exp Med* 2008;205(4):869-82.

<http://dx.doi.org/10.1084/jem.20071087>

319. Académie nationale de pharmacie. Les adjuvants aluminiques : le point en 2016. Rapport. Paris: Académie nationale de pharmacie; 2016.

https://www.acadpharm.org/dos_public/Rapport_Adjuvants_aluminiques_VF_CORR_5.pdf

320. Tang L, Zhu Q, Qin E, Yu M, Ding Z, Shi H, et al. Inactivated SARS-CoV vaccine prepared from whole virus induces a high level of neutralizing antibodies in BALB/c mice. *DNA Cell Biol* 2004;23(6):391-4.

<http://dx.doi.org/10.1089/104454904323145272>

321. Takasuka N, Fujii H, Takahashi Y, Kasai M, Morikawa S, Itamura S, et al. A subcutaneously injected UV-inactivated SARS coronavirus vaccine elicits systemic humoral immunity in mice. *Int Immunol* 2004;16(10):1423-30.

<http://dx.doi.org/10.1093/intimm/dxh143>

322. Qin E, Shi H, Tang L, Wang C, Chang G, Ding Z, et al. Immunogenicity and protective efficacy in monkeys of purified inactivated Vero-cell SARS vaccine. *Vaccine* 2006;24(7):1028-34.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.06.038>

323. Luo F, Liao FL, Wang H, Tang HB, Yang ZQ, Hou W. Evaluation of antibody-dependent enhancement of SARS-CoV infection in rhesus macaques immunized with an inactivated SARS-CoV vaccine [letter]. *Virology* 2018;33(2):201-4.

<http://dx.doi.org/10.1007/s12250-018-0009-2>

324. Haut conseil de la santé publique. Aluminium et vaccins. Rapport. Paris: HCSP; 2013.

<https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdo/main?clefr=369>

325. Académie nationale de médecine, Buégué P, Girard M, Bazin H, Bach JF. Les adjuvants vaccinaux: quelle actualité en 2012 ? Rapport. *Bull Acad Natle Méd* 2012;196(6):1177-81.

326. Organisation mondiale de la santé. Comité consultatif mondial de la Sécurité vaccinale, juin 2012. Relevé *Epidémiol Hebdo* 2012;87(30):281-8.

327. European Food Safety Authority. Safety of aluminium from dietary intake. Scientific opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC). *EFSA J* 2008;6(7):754.

328. Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization. 74th Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) meeting. Food additives and contaminants. Summary and conclusions, 2011. Roma: FAO; 2011.

<http://www.fao.org/3/a-at873e.pdf>

329. Wang ZB, Xu J. Better adjuvants for better vaccines: progress in adjuvant delivery systems, modifications, and adjuvant-antigen codelivery. *Vaccines* 2020;8(1):128.

<http://dx.doi.org/10.3390/vaccines8010128>

330. Lövgren Bengtsson K, Morein B, Osterhaus AD. ISCOM technology-based Matrix M™ adjuvant: success in future vaccines relies on formulation. *Expert Rev Vaccines* 2011;10(4):401-3.

<http://dx.doi.org/10.1586/erv.11.25>

331. Pedersen GK, Sjursen H, Nøstbakken JK, Jul-Larsen Å, Hoschler K, Cox RJ. Matrix M(TM) adjuvanted virosomal H5N1 vaccine induces balanced Th1/Th2 CD4(+) T cell responses in man. *Hum Vaccin Immunother* 2014;10(8):2408-16.

<http://dx.doi.org/10.4161/hv.29583>

332. Reimer JM, Karlsson KH, Lövgren-Bengtsson K, Magnusson SE, Fuentes A, Stertman L. Matrix-M™ adjuvant induces local recruitment, activation and maturation of central immune cells in absence of antigen. *PLoS ONE* 2012;7(7):e41451.

<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0041451>

333. Lövgren Bengtsson K, Karlsson KH, Magnusson SE, Reimer JM, Stertman L. Matrix-M adjuvant: enhancing immune responses by 'setting the stage' for the antigen [editorial]. *Expert Rev Vaccines* 2013;12(8):821-3.

<http://dx.doi.org/10.1586/14760584.2013.814822>

334. Cox RJ, Pedersen G, Madhun AS, Svindland S, Sævik M, Breakwell L, et al. Evaluation of a virosomal H5N1 vaccine formulated with Matrix M™ adjuvant in a phase I clinical trial. *Vaccine* 2011;29(45):8049-59.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.08.042>

335. Lövgren Bengtsson K, Song H, Stertman L, Liu Y, Flyer DC, Massare MJ, et al. Matrix-M adjuvant enhances antibody, cellular and protective immune responses of a Zaire Ebola/Makona virus glycoprotein (GP) nanoparticle vaccine in mice. *Vaccine* 2016;34(16):1927-35.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.02.033>

336. Petrovsky N, Cooper PD. Advax™, a novel microcrystalline polysaccharide particle engineered from delta inulin, provides robust adjuvant potency together with tolerability and safety. *Vaccine* 2015;33(44):5920-6.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.09.030>

337. Lobigs M, Pavy M, Hall RA, Lobigs P, Cooper P, Komiya T, et al. An inactivated Vero cell-grown Japanese encephalitis vaccine formulated with Advax, a novel inulin-based adjuvant, induces protective neutralizing antibody against homologous and heterologous flaviviruses. *J Gen Virol* 2010;91(Pt 6):1407-17.

<http://dx.doi.org/10.1099/vir.0.019190-0>

338. Calabro S, Tortoli M, Baudner BC, Pacitto A, Cortese M, O'Hagan DT, et al. Vaccine adjuvants alum and MF59 induce rapid recruitment of neutrophils and monocytes that participate in antigen transport to draining lymph nodes. *Vaccine* 2011;29(9):1812-23.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.12.090>

339. O'Hagan DT, Ott GS, de Gregorio E, Seubert A. The mechanism of action of MF59 - an innately attractive adjuvant formulation. *Vaccine* 2012;30(29):4341-8.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.09.061>

340. Ko EJ, Lee YT, Kim KH, Jung YJ, Lee Y, Denning TL, et al. Effects of MF59 adjuvant on induction of isotype-switched IgG antibodies and protection after immunization with T-dependent influenza virus vaccine in the absence of CD4+ T cells. *J Virol* 2016;90(15):6976-88.

<http://dx.doi.org/10.1128/jvi.00339-16>

341. Dupuis M, McDonald DM, Ott G. Distribution of adjuvant MF59 and antigen gD2 after intramuscular injection in mice. *Vaccine* 1999;18(5-6):434-9.

[http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x\(99\)00263-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0264-410x(99)00263-7)

342. de Souza Apostólico J, Alves Santos Lunardelli V, Coirada FC, Boscardin SB, Santoro Rosa D. Adjuvants: classification, modus operandi, and licensing. *J Immunol Res* 2016;2016:1459394.

<http://dx.doi.org/10.1155/2016/1459394>

343. Didierlaurent AM, Laupèze B, Di Pasquale A, Hergli N, Collignon C, Garçon N. Adjuvant system AS01: helping to overcome the challenges of modern vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2017;16(1):55-63.

<http://dx.doi.org/10.1080/14760584.2016.1213632>

344. Coccia M, Collignon C, Hervé C, Chalon A, Welsby I, Detienne S, et al. Cellular and molecular synergy in AS01-adjuvanted vaccines results in an early IFN γ response promoting vaccine immunogenicity. *NPJ Vaccines* 2017;2:25.

<http://dx.doi.org/10.1038/s41541-017-0027-3>

345. Bisht H, Roberts A, Vogel L, Subbarao K, Moss B. Neutralizing antibody and protective immunity to SARS coronavirus infection of mice induced by a soluble recombinant polypeptide containing an N-terminal segment of the spike glycoprotein. *Virology* 2005;334(2):160-5.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2005.01.042>

346. Efficacy and safety of RTS,S/AS01 malaria vaccine with or without a booster dose in infants and children in Africa: final results of a phase 3, individually randomised, controlled trial. *Lancet* 2015;386(9988):31-45.

[http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)60721-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(15)60721-8)

347. Chlibek R, Pauksens K, Rombo L, van Rijckevorsel G, Richardus JH, Plassmann G, et al. Long-term immunogenicity and safety of an investigational herpes zoster subunit vaccine in older adults. *Vaccine* 2016;34(6):863-8.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.09.073>

348. van Braeckel E, Bourguignon P, Koutsoukos M, Clement F, Janssens M, Carletti I, et al. An adjuvanted polyprotein HIV-1 vaccine induces polyfunctional cross-reactive CD4+ T cell responses in seronegative volunteers. *Clin Infect Dis* 2011;52(4):522-31.

<http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciq160>

349. Leroux-Roels I, Forgue S, de Boever F, Clement F, Demoitié MA, Mettens P, et al. Improved CD4+ T cell responses to

- Mycobacterium tuberculosis in PPD-negative adults by M72/AS01 as compared to the M72/AS02 and Mtb72F/AS02 tuberculosis candidate vaccine formulations: a randomized trial. *Vaccine* 2013;31(17):2196-206.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.05.035>
350. Roberts A, Lamirande EW, Vogel L, Baras B, Goossens G, Knott I, et al. Immunogenicity and protective efficacy in mice and hamsters of a β -propiolactone inactivated whole virus SARS-CoV vaccine. *Viral Immunol* 2010;23(5):509-19.
<http://dx.doi.org/10.1089/vim.2010.0028>
351. Yin JK, Khandaker G, Rashid H, Heron L, Ridda I, Booy R. Immunogenicity and safety of pandemic influenza A (H1N1) 2009 vaccine: systematic review and meta-analysis. *Influenza Other Respir Viruses* 2011;5(5):299-305.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-2659.2011.00229.x>
352. Garçon N, Chomez P, van Mechelen M. GlaxoSmithKline Adjuvant Systems in vaccines: concepts, achievements and perspectives. *Expert Rev Vaccines* 2007;6(5):723-39.
<http://dx.doi.org/10.1586/14760584.6.5.723>
353. Giannini SL, Hanon E, Moris P, van Mechelen M, Morel S, Dessy F, et al. Enhanced humoral and memory B cellular immunity using HPV16/18 L1 VLP vaccine formulated with the MPL/aluminium salt combination (AS04) compared to aluminium salt only. *Vaccine* 2006;24(33-34):5937-49.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2006.06.005>
354. del Giudice G, Rappuoli R, Didierlaurent AM. Correlates of adjuvanticity: a review on adjuvants in licensed vaccines. *Semin Immunol* 2018;39:14-21.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2018.05.001>
355. Scheiermann J, Klinman DM. Clinical evaluation of CpG oligonucleotides as adjuvants for vaccines targeting infectious diseases and cancer. *Vaccine* 2014;32(48):6377-89.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.06.065>
356. Bode C, Zhao G, Steinhagen F, Kinjo T, Klinman DM. CpG DNA as a vaccine adjuvant. *Expert Rev Vaccines* 2011;10(4):499-511.
<http://dx.doi.org/10.1586/erv.10.174>
357. Campbell JD. Development of the CpG adjuvant 1018: a case study. *Methods Mol Biol* 2017;1494:15-27.
http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-6445-1_2
358. Lipford GB, Sparwasser T, Zimmermann S, Heeg K, Wagner H. CpG-DNA-mediated transient lymphadenopathy is associated with a state of Th1 predisposition to antigen-driven responses. *J Immunol* 2000;165(3):1228-35.
<http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.165.3.1228>
359. Klinman DM. Immunotherapeutic uses of CpG oligodeoxynucleotides. *Nat Rev Immunol* 2004;4(4):249-58.
<http://dx.doi.org/10.1038/nri1329>
360. Rerks-Ngarm S, Pitisuttithum P, Nitayaphan S, Kaewkungwal J, Chiu J, Paris R, et al. Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand. *N Engl J Med* 2009;361(23):2209-20.
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0908492>
361. Corey L, Gilbert PB, Tomaras GD, Haynes BF, Pantaleo G, Fauci AS. Immune correlates of vaccine protection against HIV-1 acquisition. *Sci Transl Med* 2015;7(310):310rv7.
<http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.aac7732>
362. Vaccari M, Gordon SN, Fourati S, Schifanella L, Liyanage NP, Cameron M, et al. Adjuvant-dependent innate and adaptive immune signatures of risk of SIVmac251 acquisition. *Nat Med* 2016;22(7):762-70.
<http://dx.doi.org/10.1038/nm.4105>
363. Plotkin SA. Correlates of protection induced by vaccination. *Clin Vaccine Immunol* 2010;17(7):1055-65.
<http://dx.doi.org/10.1128/cvi.00131-10>
364. Petrovsky N. Comparative safety of vaccine adjuvants: a summary of current evidence and future needs. *Drug Saf* 2015;38(11):1059-74.
<http://dx.doi.org/10.1007/s40264-015-0350-4>
365. Petrovsky N. Freeing vaccine adjuvants from dangerous immunological dogma [editorial]. *Expert Rev Vaccines* 2008;7(1):7-10.
<http://dx.doi.org/10.1586/14760584.7.1.7>
366. Leventhal JS, Berger EM, Brauer JA, Cohen DE. Hypersensitivity reactions to vaccine constituents: a case series and review of the literature. *Dermatitis* 2012;23(3):102-9.

<http://dx.doi.org/10.1097/DER.0b013e31825228cf>

367. Powell BS, Andrianov AK, Fusco PC. Polyionic vaccine adjuvants: another look at aluminum salts and polyelectrolytes. *Clin Exp Vaccine Res* 2015;4(1):23-45.

<http://dx.doi.org/10.7774/cevr.2015.4.1.23>

368. Butler NR, Voyce MA, Burland WL, Hilton ML. Advantages of aluminium hydroxide adsorbed combined diphtheria, tetanus, and pertussis vaccines for the immunization of infants. *Br Med J* 1969;1(5645):663-6.

<http://dx.doi.org/10.1136/bmj.1.5645.663>

369. Aghazadeh-Habashi A, Kohan MH, Asghar W, Jamali F. Glucosamine dose/concentration-effect correlation in the rat with adjuvant arthritis. *J Pharm Sci* 2014;103(2):760-7.

<http://dx.doi.org/10.1002/jps.23819>

370. Quinlan BD, Mou H, Zhang L, Guo Y, He W, Ojha A, et al. The SARS-CoV-2 receptor-binding domain elicits a potent neutralizing response without antibody-dependent enhancement [preprint]. *bioRxiv* 2020.

<http://dx.doi.org/https://doi.org/10.1101/2020.04.10.036418>

Participants

Groupe de travail

Pr. Jean-Daniel LELIEVRE, immunologiste, membre de la CTV

Pr Agnès GAUTHERET-DEJEAN, microbiologiste, membre de la CTV

Dr Sophie TCHAKAMIAN, médecin de santé publique, chef de projet au Service d'Evaluation Economique et de Santé Publique, de la HAS

Groupe de lecture

Dominique ABITEBOUL

Lise ALTER

Elisabeth BOUVET

Jean du BREUILLAC

Pierre COCHAT

Anne DOUSSIN

Olivier EPAULARD

Daniel FLORET

Jean-Nicolas TOURNIER

Daniel LEVY-BRUHL

Michèle MORIN-SURROCA

Isabelle PARENT

Valérie PARIS

Claire ROUBAUD

Jeremy WARD

Remerciements

La HAS tient à remercier l'ensemble des participants cités ci-dessus.

Abréviations et acronymes

Ac	Anticorps
AcN	Anticorps neutralisants
Ad	Adénovirus
ADE	Antibody dependant enhancement, facilitation de l'infection par des anticorps
ADN	Acide désoxyribonucléique
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament
ARN	Acide ribonucléique
AS	Adjuvant system, système d'adjuvants
BCoV	Bovine coronavirus, Coronavirus bovin
BSL3	Biosecurity Level 3 Laboratoire de sécurité confinés dans lesquels sont manipulés les agents infectieux dont la contagion peut se faire par l'air et qui peuvent avoir des conséquences sérieuses voire mortelles.
CD	Cellule dendritique
CFA	Adjuvant complet de Freund
CLIA	ChemiLuminescence ImmunoAssay, technique de chimiluminescence
CMIA	Chemiluminescent Microparticle ImmunoAssay, technique immunologique microparticulaire à chimiluminescence
CMV	Cytomégalovirus
COVID-19	COronaVirus Disease-19
CPA	Cellule présentatrice d'antigène
DC	Dendritic Cells, Cellules dendritiques
DHTP	Dose Hebdomadaire Tolérable Provisoire
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i> , Autorité européenne de sécurité des aliments
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay, test immuno-enzymatique
EIA	Enzyme ImmunoAssay, test immuno-enzymatique
FCoV/	Feline coronavirus, coronavirus félin
FDA	Food and Drug Administration,
FIPV	Feline infectious peritonitis virus, virus de la péritonite infectieuse féline
HAS	Haute Autorité de santé
HCoV-HKU1, OC43, NL63, 229E	Coronavirus humains banals
HPD	Highest posterior density
IBV	Infectious bronchitis virus, Virus de la bronchite infectieuse
IFN	Interféron
IHN	Infectious hematopoietic necrosis virus, virus de la nécrose hématopoïétique infectieuse
IRF	Interferon Regulator factors, facteurs de régulation de l'interféron

ISG	Interferon stimulated gene, gène stimulé par l'interféron
JECF.A	<i>Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives</i> , Comité mixte FAO / OMS d'experts des additifs alimentaires
LIPS	Luciferase Immunoprecipitation Assay, système d'immunoprécipitation avec luciférase
MERS-CoV	Middle East Respiratory Syndrome-related CoronaVirus
MHV	Murine hepatitis virus, virus de l'hépatite murine
MPL	Monophosphoryl lipide
MRCA	Most Recent Common Ancestor, ancêtre commun le plus récent
MVA	Modified Vaccinia virus Ankara, virus de la vaccine Ankara modifié
NALT	Nose-Associated Lymphoid Tissue, tissu lymphoïde associé aux muqueuses du nasopharynx
NHP	Non human primate
NSP	Non Structural Protein, protéine non structurale
ODN	Oligodésoxynucléotides
ORF	Open Reading Frame, cadre de lecture ouvert
PAMP	Pathogen-Associated- Molecular Pattern, motifs moléculaires associés à des pathogènes
PBCS	Polybasic cleavage site, site de clivage polybasique (site de clivage entre S1 et S2)
PRR	Pattern Recognition Receptor, récepteur de reconnaissance de motifs moléculaires
Protéine S	Protéine de surface, spike
Récepteur ACE2	Récepteur angiotensin converting enzyme 2
RBD	Receptor Binding Domain
RBM	Receptor Binding Motif
SARS-CoV-1	Severe Acute Respiratory Syndrome-related CoronaVirus-1
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome-related CoronaVirus-2
S-Flow assay	Recognition of surface protein by flow cytometry, reconnaissance de protéine de surface par cytométrie en flux
SNPs	Single nucleotide polymorphism, polymorphisme nucléotidique unique
TCID50	Fifty-percent tissue culture infective dose Mesure du titre du virus infectieux. Ce test de dilution quantifie la quantité de virus nécessaire pour tuer 50 % des animaux infectés
TGEV	Transmissible gastroenteritis virus, virus de la gastro-entérite transmissible porcine
TRM	T Resident Memory
VARS	Voies aériennes (respiratoires) supérieures
VI	Vaccin inactivé
VIH	Virus de l'Immunodéficience humaine
VP	Vaccin protéique
VSV	Virus de la stomatite vésiculeuse
VVA	Vaccin Vivant Atténué
WNV	West Nile Virus

Retrouvez tous nos travaux sur
www.has-sante.fr

